

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

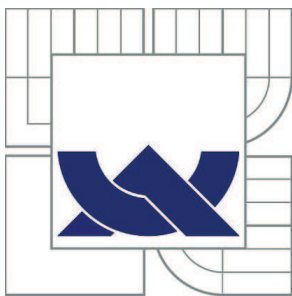
PROBLEMATIKA PRODUKTŮ OSOBNÍ PÉČE VE SLOŽKÁCH
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

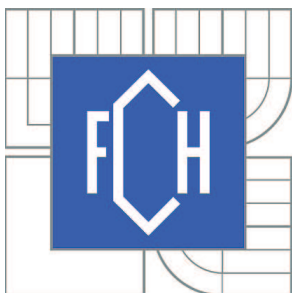
Bc. ONDŘEJ BABUŠ

BRNO 2010



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

PROBLEMATIKA PRODUKTŮ OSOBNÍ PÉČE VE SLOŽKÁCH ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

PERSONAL CARE PRODUCTS AS ENVIRONMENTAL CONTAMINANTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

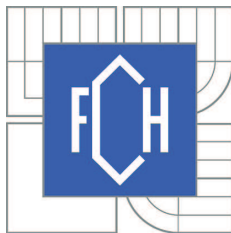
Bc. ONDŘEJ BABUŠ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0335/2009	Akademický rok: 2009/2010
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Ondřej Babuš	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:	Ing. Libor Zouhar	

Název diplomové práce:

Problematika produktů osobní péče ve složkách životního prostředí

Zadání diplomové práce:

1. Vypracování literární rešerše
2. Výběr hodnocených analytů a vhodných metod pro jejich stanovení
3. Vypracování metody pro jejich stanovení a její optimalizace
4. Ověření metody na modelových vzorcích
5. Zhodnocení výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 14.5.2010

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Ondřej Babuš
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Syntetické musk sloučeniny byly poprvé uměle připraveny na konci 19. století. Používají se k parfemaci kosmetiky, detergentů a produktů osobní péče. V posledních letech se jim věnuje velká pozornost, protože díky širokému použití pronikly do mnoha složek životního prostředí.

Cílem této diplomové práce je určit vliv ultrafiltrace na snížení koncentrace těchto látek v průmyslových odpadních vodách kosmetické firmy. Analyty byly ze vzorku extrahovány pomocí mikroextrakce tuhou fází (SPME). Analýza proběhla na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí (GC/MS). Celá metoda byla optimalizována na vhodný průběh. Na základě získaných dat před a po ultrafiltraci se zjistila průměrná účinnost odstraňování syntetických musk sloučenin z odpadní vody tímto postupem.

ABSTRACT

Synthetic musk compounds were first prepared artificially in the late 19th century. They have been used to perfume cosmetics, detergents and personal care products. The attention of many researchers has been focused on it recently, due to its high penetration into the nature which is a logical consequence of its great use.

The main goal of this thesis is to determine the effect of the ultrafiltration on the concentration reduction of substances mentioned above in the industrial waste waters produced by the cosmetic company. Analytes from the sample were extracted using solid phase microextraction (SPME) and on gas chromatography analysis with mass spectroscopy (GC/MS) has been performed. The whole method was optimized and evaluated. Determination of the average efficiency of the ultrafiltration was made based on data obtained before and after ultrafiltration. Such efficiency determines the suitability of use of this method for removal of synthetic musk compounds from waste waters.

KLÍČOVÁ SLOVA

Musk sloučeniny, SPME, GC/MS, průmyslové odpadní vody, ultrafiltrace

KEY WORDS

Musk compounds, SPME, GC/MS, industrial waste waters, ultrafiltration

BABUŠ, O. *Problematika produktů osobní péče ve složkách životního prostředí*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 80 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Rád bych poděkoval své vedoucí diplomové práce paní prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za trpělivost, rady a pomoc při řešení této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Liborovi Zouharovi za cenné rady a pomoc při řešení předložené diplomové práce a rovněž všem pracovníkům na VFU za jejich pomoc při řešení experimentální části této práce.

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	9
2.1	Čich	9
2.1.1	Možnosti čichu	10
2.1.2	Pachové látky a jejich vliv na zdraví.....	10
2.1.3	Hedonický efekt	11
2.2	Historie vůní.....	11
2.2.1	Egypt	11
2.2.2	Starověké Řecko.....	12
2.2.3	Indie.....	12
2.2.4	Čína	13
2.2.5	Antický Řím	13
2.2.6	Itálie a Francie	13
2.2.7	Důležité okamžiky v historii parfémů	13
2.3	Dělení vonných látek.....	14
2.3.1	Vonné látky rostlinného původu	14
2.3.2	Vonné látky živočišného původu	15
2.3.3	Uměle syntetizované vonné látky	16
2.4	Musk sloučeniny	16
2.4.1	Nitromusk sloučeniny	17
2.4.2	Polycyklické musk sloučeniny	21
2.4.3	Makrocyclické musk sloučeniny.....	23
2.4.4	Nové musk sloučeniny	25
2.4.5	Charakteristika sledovaných musk sloučenin	25
2.4.6	Souhrn fyzikálních a chemických vlastností syntetických musk sloučenin. 27	
2.5	Musk sloučeniny v životním prostředí.....	28
2.5.1	Vstup syntetických musk sloučenin do životního prostředí.....	28
2.5.2	Výskyt v jednotlivých složkách životního prostředí.....	29
2.5.3	Degradace.....	31
2.5.4	Metabolizace a bioakumulace	32
2.5.5	Toxicita.....	34
2.6	Ultrafiltrace	34
2.7	Dermacol	36
2.7.1	Historie firmy	36
2.7.2	Výrobní závod Brno	36
2.8	Analytická chemie musk sloučenin.....	36
2.8.1	Odběr vzorku.....	37
2.9	Transport vzorku.	37
2.9.1	Izolace analytu z matrice.....	37
2.9.2	Identifikace a kvantifikace analytů	41
2.9.3	Hmotnostní spektrometrie	45
3	Experimentální část	48
3.1	Používané přístroje, zařízení a software.....	48
	Přístroje a zařízení	48
	Mikroextrakce tuhou fází.....	48

3.2	Chemikálie a standardy	48
3.3	Pracovní postupy	49
3.3.1	Čistící postupy	49
3.3.2	Příprava pracovních a kalibračních roztoků	49
3.4	Zjištění retenčních charakteristik a hmotnostních spekter analytů pomocí GC/MS	
50		
3.5	Optimalizace metody GC/MS – teplotní rampa	50
3.6	Optimalizace SPME	51
3.6.1	Základní nastavení metody SPME	51
3.6.2	Typ vláken a provedení	51
3.6.3	Čas sorpce	51
3.6.4	Teplota sorpce	51
3.7	Vzorkování	52
3.7.1	Specifikace a zpracování vzorků	52
3.8	Proměření reálných vzorků	52
3.8.1	Kvantifikace analytů pomocí GC/MS	52
3.8.2	Určení LOD a LOQ	53
3.8.3	Opakovatelnost	53
4	Výsledky a diskuze	54
4.1	Zjištění retenčních charakteristik a hmotnostních spekter analytů pomocí GC/MS	
54		
4.2	Optimalizace metody GC/MS – teplotní rampa	59
4.2.1	Parametry optimalizované metody pro GC/MS	61
4.3	Optimalizace SPME	61
4.3.1	Typ vláken	61
4.3.2	Čas sorpce	62
4.3.3	Teplota sorpce	63
4.3.4	Parametry optimalizované metody SPME	64
4.4	Stanovení analytů v reálných vzorcích	64
4.4.1	Účinnost ultrafiltrace	68
4.5	Stanovení LOD a LOQ	69
4.6	Nejistoty analytických výsledků	72
5	Závěr	74
6	Seznam zdrojů	76
7	Seznam použitých zkratk a symbolů	80

1 ÚVOD

Člověk má pět základních smyslů - zrak, sluch, hmat, chuť a čich. Ačkoliv můžeme tvrdit, že zrak pro nás získává až 80 % všech informací z našeho okolí, mají také ostatní smysly své nezastupitelné místo. Nutno konstatovat, že důležitou roli má také čich. Patří mezi smysly, které se během evoluce vytvořily nejdříve. Čich reaguje na všechny pachy, se kterými se člověk v přírodě setkává.

Samozřejmě se musíme dívat na samotný čich jako na smyslový orgán, který reaguje na všechny chemické látky, které se nacházejí v prostředí. Samotné chemické látky reagují s receptory na povrchu smyslového orgánu a přenášejí vlastní informaci nervovými drahami do mozku. Výsledkem pro nás je informace, kterou označujeme různými názvy, například jako zápach, vůně, atd. Otázka, kterou si můžeme položit je ta, proč se čich vytvořil jako jeden z prvních smyslů.

Během evoluce, kdy se z jednoduchých organismů vytvářeli stále složitější, bylo třeba najít vhodné zdroje potravy. A vzhledem k tomu, že se organismy začali tvořit ve vodném prostředí, byl smysl čichu, jako orgánu reagujícího na látky v prostředí, velmi vhodný. Podobného principu využívají i jednobuněčné organismy, kdy receptory situované na povrchu buněčné stěny reagují na okolní chemické látky.

Čich nám v důsledku toho poskytuje odpověď na otázky, na které nám ostatní smysly nedokážou odpovědět. Používáme ho již od raného dětství, tj. v době, kdy ostatní smysly nedokážeme využít. Díky tomu jsou informace, které jeho prostřednictvím získáme, tak trvalé. Můžeme říci, že na tvář člověka můžeme zapomenout, ale vůni, která nám připomíná rodný domov, ačkoliv jsme tam třeba 20 let nebyli, tak tu jsme obvykle nezapomněli.

V dnešní společnosti mají vůně již své pevné místo. Lidská společnost spotřebovává vůně v různých formách; především jsou k dispozici parfémy, prací prášky, produkty denní osobní péče, detergenty aj. Každý tento výrobek obsahuje určitou vonnou složku. Vonné složky obsahují vonné látky jak přírodního, tak i umělého původu. Přejít mezi umělými vonnými látkami a přírodními vonnými látkami tvoří přírodně identické látky. Tyto přírodně identické látky jsou vyráběné průmyslově, avšak jejich struktura je stejná jako u látek, které se v přírodě vyskytují přirozeně.

Významnou skupinou mezi umělými syntetickými vonnými látkami jsou syntetické analogy pižma. Často se tyto látky také nazývají musk sloučeniny. Studie zveřejněné v 90. letech 20. století poukázaly na to, že syntetické vonné látky lze hodnotit jako další skupinu kontaminantů, která se vyskytuje téměř všude, ve všech složkách životního prostředí. Zjistilo se, že tyto látky disponují vlastnostmi, které z nich dělají novou skupinu perzistentních organických polutantů. Vzhledem ke své lipofilní povaze mají schopnost biokoncentrace a pravděpodobně i bioakumulace.

Nejčastěji se dostávají do životního prostředí prostřednictvím odpadních vod. Čistírný odpadních vod bohužel nejsou schopny během čistírenského procesu zlikvidovat nebo nasorbovat na čistírenský kal veškeré musk sloučeniny.

Cílem předložené diplomové práce bylo zjistit účinnost ultrafiltrace na odstraňování vybraných zástupců syntetických analogů pižma z průmyslových odpadních vod. K dispozici byly vzorky odpadních vod pocházející z kosmetické firmy Dermacol, a.s., se sídlem v Brně. Vzorky vody se odebíraly před vstupem do ultrafiltrace a po výstupu z ní. Extrakce analytu ze vzorku byla prováděna pomocí SPME a analytickou koncovkou byla GC/MS; celý

analytický postup byl optimalizován. Závěr práce nám poskytne odhad, kolik se celkově vypustí syntetických analogů pižma do městské kanalizace.

2 TEORETICKÁ ČÁST

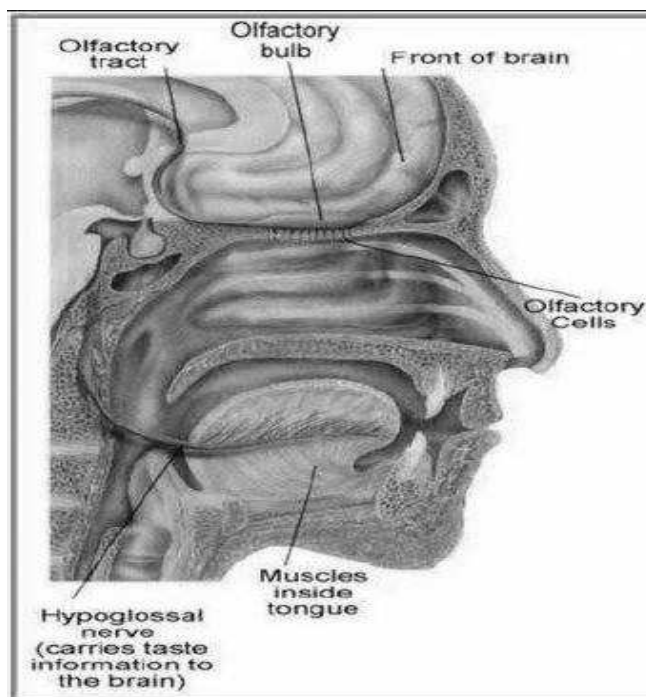
2.1 Čich

Čich náleží mezi pět základních smyslů. Čich samotný není u všech živočichů, kteří jím disponují, stejně účinný. Pokud se zaměříme na savce zjistíme, že u nich čich patří mezi nejdůležitější smysly.

Čich je stejně jako chuť chemickým smyslem, pomocí kterého neustále monitorujeme své okolí. Prostřednictvím čichu jsme při dýchání informováni o aktuální kvalitě okolního ovzduší a o případném hrozícím nebezpečí. Čich je také významnou součástí dalšího základního smyslu, kterým je chuť. Náš čichový orgán se skládá ze dvou základních částí, tj. z vlastních čichových buněk nacházejících se v nosní sliznici a čichového centra umístěného v mozku. Čichové ústrojí zaujímá strop nosní dutiny, horní skorepu a odpovídající část nosní přepážky [7].

Čichová sliznice je malá, nažloutlá, asi 5 cm velká ploška, která se nachází v klenbě nosní dutiny. Celá dutina, ohraničená zespoda patrem a shora spodinou lebeční, je vystlána místy až 4 mm silnou, bohatě prokrvenou sliznicí. Do ní ústí mnoho hlenových žlázek vylučujících souvislý povlak hlenu, což je vazká kapalina udržující sliznici vlhkou. V oblasti nosní dutiny jsou uložena nervová zakončení, která zaznamenávají zápach. Tato oblast, které říkáme čichový epitel (čichová oblast), je hustě zaplněna miliony nervových zakončení - malými čichovými buňkami [7, 8].

Jednotlivé vůně a pachy jsou zjišťovány čichovými nervy, které v podobě chloupku vybíhají do horní části nosní dutiny a vstřebávají a analyzují molekuly z vdechnutého vzduchu. Čichové buňky jsou zvlhčovány sekretem čichových žlázek a jsou drážděny plynnými látkami ve vdechovaném vzduchu, které se v sekretu rozpouštějí, a teprve potom je vjem snímán. V hloubce sliznice vytvářejí čichové buňky ze svých vodivých výběžků pleteň, z níž vznikají vlákna čichového nervu. Ten vede čichový vjem do čichového bulbu a odtud do čichového centra mozku na spodině čelního laloku koncového mozku. Vyhodnocení vjemu je složitý proces. Přenesený signál musí být porovnán s tím, co již bylo uloženo v paměti. Teprve potom jsme schopni říci, zda je nám vůně příjemná, nebo která ze známých vůní je tomu, co právě cítíme, nejvíce podobné [7, 8].



Obrázek 1. Popis čichového ústrojí [9]

2.1.1 Možnosti čichu

V dalším textu jsou uvedeny možnosti, které nám čich poskytuje:

V dalším textu jsou uvedeny možnosti, které nám čich poskytuje:

- člověk patří mezi tzv. mikrosomaty, tj. živočichy se slabě vyvinutým čichem
- jsme schopni rozlišovat látky v koncentracích, které jsou běžnými fyzikálními a chemickými metodami nezjistitelné. U růžového oleje je to již množství 0,00000002 mg v jednom litru vzduchu.
- čich např. u vlka je asi milionkrát lepší, než u člověka. Čichová tkáň vlka zabírá plochu 14x větší, než čichová tkáň člověka a obsahuje asi 200 milionů smyslových buněk, zatímco lidská pouze 5 mil.!
- člověk je schopen rozeznat mnohem více odlišných vůní, než kolik dokáže rozlišit zvuků
- člověk dokáže rozlišit několik tisíc čichových kvalit, avšak vůně a pachy se často nedají jako podněty přesně klasifikovat
- tzv. čisté čichové pocity poskytuje přibližně jen padesát látek; ty je možné rozdělit na vůně nebo pachy: *kořenné, květinové, ovocné, pryskyřičné, hnilobné a spáleninové*
- většina látek svou vůní vyvolává pocity smíšené, velmi často spojené s drážděním dalších čidel, např. chuťových
- ženy mají v průměru až o 20 procent jemnější čich a tuto přednost si uchovávají po celý život; geneticky predisponují jemnějším čichovým smyslem, věnují čichovým stimulům větší pozornost a vnímají je v širším spektru [9].

2.1.2 Pachové látky a jejich vliv na zdraví

V olfaktorickém (čichovém) systému se dále předpokládají linie, které působí na různé neurofyzilogické aktivity a potažmo na chování člověka. Tato vyšší mozková spojení pro čichové vjemy jsou závislá na různých nervových propojeních s jinými částmi mozku, kde se vytvářejí (jako typická reakce) mechanismy pro kontrolu asociativního chování. V nervovém systému existuje hierarchie, která znemožňuje čichovému vjemu ovlivnit tato spojení a

příslušné asociativní chování za účelem zachování schopnosti plnit kritické funkce pro přežití a jiné výše motivované funkce. Například silné čichové impulsy, jako nepřítel, dravec, lovná zvěř, oheň, voda, zkažená voda nebo potrava, umožňovaly našim předkům využít jejich intelekt ke sledování určitého cílového chování mnohem více než jiné vjemy, založené na jemném čichovém rozlišování. Druhým faktorem ovlivňujícím chování je přímé propojení čichového vstupu (vzruchu) s mozkem, zejména hypothalamem a limbickými oblastmi, s jejich důležitostí pro motivační, emocionální, edukativní a paměťové chování [9].

2.1.3 Hedonický efekt

Je vyhodnocovací systém mozku, který se dá rozdělit na stav libosti a nelibosti:

- příjemné nebo nepříjemné vůně vyvolávají u jedince prospěšné nebo neprospěšné efekty
- hedonickou hodnotu vnímá každý jedinec subjektivně, závisí na tom, zda vůni známe nebo je pro nás cizí; rovněž je důležité posoudit, jaká byla naše dřívější reakce, jaké podobenství v nás vzbuzuje a co s ní spojujeme aj.
- dochází k pozitivním nebo negativním neurochemickým pochodům; platí, že čím je příjemnější okolní prostředí, tím vstřícnější je chování uvnitř něho. Působením libých stimulů je podporována tvorba nových mozkových buněk, stres naopak tuto tvorbu potlačuje.
- tyto projevy afinity nebo averze lze pozorovat i při osobním parfémování, provonění bydlišť, pracovišť atd.
- různá aroma vyvolávají prospěšné metabolické změny zlepšující zdraví, náladu nebo chování
- signální mechanismy v čichovém systému zasahují ty části mozku, které jsou odpovědné za naši ostražitost, pozornost, paměť a učení, náladu a pocity; co dobře voní je dobré i pro člověka
- pokud jsme obklopeni krásnými vůněmi cítíme se přirozeně lépe, zlepšuje se náš celkový zdravotní stav, vytváří se prostředí harmonie a pohody
- je-li prostředí zamořeno nepříjemným zápachem, vyvolává okamžitou reakci odporu
- zápach způsobuje nezdravé prostředí a neguje všechny stimuly, i když jsou samostatně pozitivní a znemožňuje harmonii
- v příjemně provoněném prostředí se dokážeme soustředit lépe, bez stresu a v důsledku toho dosahujeme rychleji cílů [9].

2.2 Historie vůní

2.2.1 Egypt

Oblast v okolí delty Nilu byla osídlena již ve starověku. Proto není divu, že již 6 000 let před naším letopočtem zde fungovala vyspělá civilizace. Absenci písemných dokumentů zde nahrazují archeologické vykopávky. Díky nim máme celkem jasnou představu o tehdejších životech.

V Egyptě byly i vůně velmi důležité z náboženských důvodů. Každý bůh a každé roční období mělo svoji vůni. Ze zápalných se používalo olibanum, což byla směs kadidla a myrhy. Z období Staré říše se dochovaly dózy od parfémů a vůní. Používaly se květiny, které se v

parfumerii zpracovávají dodnes, zejména růže, jasmín, bazalka, máta a různá koření. Další typické zdroje vůní pro Egypt byly lotosové květy; egyptané znali i mošus, ambru a cibet.

Olibanum - kadidlovník pravý (*Boswellia sacra*)

- planě rostoucí strom vyskytující se zejména v Etiopii. Po poranění kůry roní světle žlutou pryskyřici. V současnosti se z ní vyrábí resinoid olibanum a destilací vodní párou potom olibanová silice.

Myrha - myrhovník pravý (*Commiphora abyssinica*)

- trnitý keř s drobnými vejčitými lístky. Roste planě v Etiopii. Po poranění roní kůra hnědou pryskyřici, která je surovinou pro výrobu silice a resinoidu. Oba produkty jsou příjemné, sladce kořenné a současně balzamicky voní [10].

2.2.2 Starověké Řecko

Před více než 2500 lety existovaly na území dnešního Řecka vysoce rozvinuté městské státy. Řekové uctívali mnoho bohů a bohyň, kterým se jako oběť zapalovalo olibanum a další vonné pryskyřice.

Žádný obřad se také neobešel bez vonných olejů - nejčastěji růžového, avšak macerovaly se také lilie, kosatce, levandule, majoránka, myrta a pískavice. Zvláštní oblibě se těšily fialky, jimiž se zdobila i lůžka nevěst.

O bohyni Afrodité se říkalo, že byla první, kdo začal vonné rostliny a oleje používat. Řekové používali mnoho vůní výhradně pro svou vlastní potřebu. Hygieně a kultuře těla vůbec věnovali velkou pozornost. Používání lázní převzali od Egyptanů; většinou se koupali v mramorových bazénech, otroci je poté natírali. Zastávali zásadu: čím více, tím lépe.

Do této doby datujeme také první značkové kosmetické výrobky - athénský občan Megallos se zabýval výrobou vonných směsí a prodával je pod svou značkou Megallium [10].

2.2.3 Indie

Na indickém subkontinentu existovaly vyspělé civilizace už ve 4. až 3. tisíciletí před naším letopočtem. Při archeologických výzkumech byl nalezen i jednoduchý terakotový předchůdce destilačního přístroje pro přípravu vonných vod. Jeho stáří se odhaduje na 5000 let a ke spatření je v současné době v muzeu v pákistánském městě Taxila.

V Indii sloužily vonné květy a pryskyřice v první řadě k počtě příslušných božstev. Čím vyšší bůh, tím vzácnější rostlina mu byla zasvěcena. Bráhmovi, nejvyššímu bohu hinduistů, patřila vzácná modrá *Michelia champaca*. Oběti se přinášely i bohům Višnovi a Šivovi, zde se však k zápalným obětem používalo zejména santalové dřevo.

Vůně měly velký význam nejen v náboženském, ale i v běžném životě Indů a provázely člověka od narození až do smrti. Mast'ové oleje připravované z rostlin sloužily pro kosmetické a léčebné účely.

Parfémovaly se i barvicí směsí, kterými si věřící hinduisté kreslili na pažích a obličejích obřadná znamení, parfémovaly se i oděvy, vlasy a lůžka.

Parfémy starého Orientu se lišily od vůní používaných v Evropě. Mezi nejoblíbenější patřovala směs mošusu, santalu a růže [10].

2.2.4 Čína

V Číně běžně rostly kafrovníky, skořicovníky, některé druhy citrusů, broskve a meruňky. Z Tibetu byla dovážena další vzácná surovina - mošus, která byla hojně používána k mnoha účelům. Číňané také originálně využívali vonné květy některých rostlin k parfémování čaje, např. dodnes oblíbeného jasmínu, gardénií nebo chryzantém. Číňané parfémovali spíše své okolí než vlastní těla.

I zde se používaly vonné látky k zápalným obětem. Spalováním tyčinek se měřil čas při náboženských meditacích; po jejich dohoření cinkl malý zvonek, který byl připojen na konci dvou hořících tyčinek [10].

2.2.4.1 Mošus

Samec kabara pižmového obývající vysokohorské oblasti Tibetu má v blízkosti pohlavních orgánů váček, ve kterém se shromažďuje sekret - mošus. Tato hmota je v surovém stavu páchnoucí. V procesu přípravy vonných látek se dále sušila a zpracovávala na lihovou tinkturu, která pak delší dobu zrála. Patří mezi nejintenzivněji vonící látky [10].

2.2.5 Antický Řím

Koupele a parfumerie byly důležité ve starém Římě. V této době byly již živě využívány obchodní stezky do Arábie, Indie a Číny. Po nich kupci dováželi exotické rostliny jako santalové dřevo, pomeranče a koření. Poptávka po parfémech byla tak velká, že podpořila rozvoj sklářství, které dodávalo praktické a populární skleněné flakony. Po pádu Římské říše pokračovali v parfémářství učenci z Persie a Arábie [10].

2.2.6 Itálie a Francie

Před nástupem renesance byly jedinými stopami po rostlinách pěstovaných pro parfémářství a medicínu v Evropě bylinky, pěstované mnichy v některých klášterech. V době italské renesance se začal obchod rozvíjet. Exotické zboží a nové zvyky z Blízkého a Dálného východu se staly módními, stejně jako obnovený zájem o hygienu. Zájem o vůně, zdraví a hygienu expandoval po celém západním světě až do současného měřítko [10].

2.2.7 Důležité okamžiky v historii parfémů

V raném středověku rozvinuli Arabové techniku destilace rostlin a rozvoj parfémů zaznamenal veliký pokrok. Tato technika umožnila výrobu éterických olejů a vonných vod (růžová voda), které byly užívány pro nejrůznější účely. Do Evropy byl poprvé jako novinka zaveden parfém francouzskou královnou Kateřinou Medicejskou.

Parfémy a vonné prostředky z východu se po pádu Říma staly téměř nedostupným artiklem. Lidé z Evropy si však žádali stále nové vůně a parfémy. O jejich dovoz se staraly Benátky. Umění destilace se stále rozvíjelo, byla objevena *aqua vitae*, tj. koncentrovaný alkohol. Tato surovina byla při výrobě parfémů nepostradatelná.

Po roce 1492 po objevení Ameriky se obohatil svět o další nové parfémy.

Další revoluce ve vývoji parfémů nastala na přelomu 17. a 18. století, kdy na scénu poprvé vstoupila kolínská voda (1710, dostala název po městě Kolín). V devatenáctém století se začaly parfémy vyrábět průmyslově. Rozvoj organické chemie vedl k výrobě organických vonných látek. Hitem se stalo především mýdlo - symbol čistoty a zdraví.

Již více než 100 let jsou parfémy spíše prostředky diskrétní péče o naši krásu. Vývoj vůní a parfémů nekončí a ani současných 60 tisíc vůní nestačí. Parfémy a nové jedinečné vůně jsou stále se obměňujícími osobitými výrobky lidské nápaditosti [10].

2.3 Dělení vonných látek

V základním dělení vonných látek získáme tři skupiny - rostlinné vonné látky, živočišné vonné látky a syntetické vonné látky. Syntetické vonné látky se začínaly používat ve větší míře již od konce 19. století. Do té doby se používaly převážně vonné látky rostlinného původu, s příměsí živočišných vonných látek.

2.3.1 Vonné látky rostlinného původu

Rostliny náš všude obklopují a naše existence je s nimi životně spjatá. Jako primární producenti biomasy se starají o přeměnu sluneční energie na energii využitelnou dalšími organismy - konzumenty. Ačkoliv je tato úloha rostlin nezastupitelná, člověk našel u rostlin další smysl jejich existence. Jsou pro něj zdrojem přírodních vonných látek, které jsou v dnešním světě nezastupitelné. Za zdroj těchto vonných látek se dá považovat celé tělo rostliny. Je samozřejmé, že se musí brát zřetel také na konkrétní druh a období, ve kterém dochází ke sklizni rostliny. Je až překvapivé, jak složité molekuly jsou rostliny schopny syntetizovat a s jakou lehkostí, zatímco člověk spotřebovává velké množství energie při snaze napodobit tyto syntézy.

Z rostlinných vonných látek hrají nejdůležitější roli silice, dříve nazývané éterické oleje. Nejčastěji se vyskytují v květech, ale jsou obsaženy i v dalších částech rostlinného těla. Většina silic disponuje příjemnou vůní, jsou nerozpustné ve vodě a dobře rozpustné v organických rozpouštědlech. Mají charakter olejovitých těkavých kapalin.

U rostlin se běžně setkáváme s pojmem sekundární metabolismus, což je metabolismus, který obsahuje pochody, které nejsou životně důležité pro život organismu. Jeho činnostmi vznikají látky, které zajišťují organismu jisté výhody. Silice jsou právě produkty sekundárního metabolismu. Jak již bylo řečeno výše, sekundární metabolismus není životně důležitý, a proto probíhá jen v době, kdy je organismus, v našem případě organismus rostliny, v optimálních podmínkách. Rostlina má v té době dostatečné zásoby stavebních látek, které jsou většinou původem z primárního metabolismu - cukry, tuky a bílkoviny. Z celkového počtu 100 000 všech rostlinných druhů obsahuje silice pouze 1 700 a z toho pouze 200 má význam pro praktické použití.

Díky povaze silic a jejich umístění v rostlinách je nutné zajistit, aby nedocházelo k jejich rychlé degradaci. Proto je snaha je konzervovat co nejdelší dobu. Ze standardních postupů je k dispozici sušení částí rostlin, které obsahují požadovanou aromatickou složku. Jak již bylo zmíněno výše, obsah silic a dalších aromatických látek je závislý na sekundárním metabolismu. Je zřejmé, že se množství požadovaných látek v rostlině v průběhu roku mění. Je proto rozumné sklízet rostlinu v době, kdy je tato koncentrace nejvyšší. Vliv na koncentraci mohou mít i samotné přírodní podmínky, tj. důležitou roli hraje to, zda se rostlina nachází v mírném, subtropickém nebo tropickém pásmu. V našich podmínkách patří mezi nejběžněji sbírané rostliny mateřídouška, šalvěj, lípa nebo kopřiva. Velmi významnými rostlinami poskytujícími vonné látky jsou také vanilka, fialka, santalové dřevo, myrha, citron, levandule, frankincense a růže [1,11].

Kromě silic existují i další látky rostlinného původu, které jsou aromatické. Jsou to balzámy, pryskyřice nebo guma. Balzámy a pryskyřice vznikají při poranění rostliny. Jejich účelem je ochránit zraněná pletiva a zabránit většímu poškození rostliny. Pryskyřice jsou tuhé a balzámy jsou tekuté [11].

2.3.1.1 Extrakce rostlinných vůní

Kromě dříve zmíněného sušení existují i další sofistikovanější způsoby, jak vůni zachytit a konzervovat. Některé z nich jsou již velmi staré.

Destilace vodní parou

Princip techniky spočívá v tom, že se rostlinný materiál vloží do vařící vody a spolu s odcházející párou odchází i vonné složky, hlavně silice. Pára se poté zkapalní a získaná silice zůstává na hladině, odkud se sbírá. Pro získání čistších produktů se používá vícenásobná destilace [1].

Extrakce těkavými rozpouštědly

Rostlinný materiál je v extraktorech umístěn na děravých kovových plátech. Extraktorem prochází páry rozpouštědla. Ty se dále vedou do destilačního přístroje, kde páry kondenzují v polotuhou hmotu, zvanou beton. Ten je potom složen z vonné silice a voskovité látky zvané stearopten. K rozdělení těchto dvou složek se používá alkohol. Získává se tak nejčistší a nejkoncentrovanější vonná esence nazývaná „absolut“ [1].

Lisování

Tato metoda se používá pro získávání silic z oplodí citrusových plodů. Slupky se nejprve na lisu drtí a lisují a poté se v odstředivce za pomoci odstředivé síly získávají požadované silice.

Výtěžnosti bývají většinou velmi nízké. Cena těchto produktů může být závratná, záleží však na čistotě produktu. Jako příklady lze uvést následující: z 1000 citrónů se získá 0,5 kg oleje, k vydestilování 0,45 kg růžového oleje je třeba 454 kg růží. Nejdražší esence pro výrobu parfémů se získává z jasmínu, kdy 0,4 hektaru vydá 227 kg květů, a z tohoto množství se získá pouze 0,23 kg oleje [1].

2.3.2 Vonné látky živočišného původu

Vonné látky živočišného původu patří mezi velmi vzácné vonné ingredience. Fungují jako výborné fixátory - ty dodávají parfému stálost, trvanlivost a to jak v lahvi, tak na pokožce. Jsou součástí těch nejdražších parfémů. Nejdůležitější jsou ambra, cibet, pižmo a castoreum. Specifikum vonných látek živočišného původu je v tom, že ve svém přírodním stavu jsou velmi koncentrované a pro aplikaci nepoužitelné. Musí se ředit, popř. se ještě dále upravovat. Díky jejich vysoké ceně se s nimi setkáme již jen u velmi drahých produktů.

Pokud se samotná vůně těchto látek dá nějak popsat, tak ji charakterizuje pocit stimulace, harmonizace všech komponent parfému, má erotický náboj a obecně dodává parfému hloubku, živočišnou teplotu a živost. Díky těmto vlastnostem neexistuje snad ani jeden parfém bez obsahu nějaké musk sloučeniny. Dokonce existuje jeden, který obsahuje pouze musk sloučeniny a to Velviona. [12]

2.3.2.1 Ambra

Její původ je v žaludcích vorvaňů. Jako taková je produkována při poranění a je vyvrhována v různých velikostech, od gramů až ke kilogramům. Poté plave volně na hladině moří a oceánů, popř. je vyvrhována na pobřeží [12].

2.3.2.2 Cibet

Malé šelmy cibetky žijící v Africe a Asii mají podocasní žlázy, které produkují cibet. Má velmi intenzivní zápach a proto se používá zředěný [12].

2.3.2.3 Pižmo

Samec kabara pižmového produkuje ve svých žlázách pižmo neboli modus. Jeho vysoká cena je a byla důvodem snahy vytvořit charakteristické zabarvení vůně uměle. Podařilo se to až vynálezci Nylonu, a to náhodně při svých pokusech. Funkce mošusu je v jeho schopnosti stabilizovat ostatní parfémové složky [12].

2.3.2.4 Castoreum

Výměšek získávaný ze žláz bobra. Používá se v pánských parfémech [12].

2.3.3 Uměle syntetizované vonné látky

Do této kategorie spadají všechny uměle vyrobené látky, které se využívají jako zdroje vůní. Jedná se o látky nevyskytující se v přírodě. Původ jednotlivých vůní či geneze jednotlivých molekul je různá, některé byly objeveny náhodně při různých pokusech, jiné jsou deriváty v přírodě se vyskytujícími látkami. V dnešní době existuje mnoho rostlinných a živočišných vůní, které nemají svůj původ v přírodě. Důvod jejich použití je ten, že kosmetický průmysl je natolik obrovský, že samotná příroda není schopna uspokojit poptávku po vůních. Do kategorie uměle syntetizovaných vonných látek spadají molekuly různého charakteru a struktury, tj. přes alkoholy, aldehydy až po polycyklické organické sloučeniny. Za velmi důležitou skupinu lze označit uměle vytvořené látky vyznačující se mošusovou vůní. Je to velice pestrá kategorie, která má dnes široké uplatnění [12].

2.4 Musk sloučeniny

Tato velmi různorodá skupina látek se vyznačuje specifickou vůní, která připomíná vůni pižmo - mošus. Odtud pochází také anglický název skupiny těchto látek, musk - mošus.

Jejich využití v dnešním kosmetickém průmyslu a také v průmyslu vyrábějícím čisticí prostředky je obrovské. Používají se v i v těch nejlevnějších mycích prostředcích [12].

Celá skupina musk sloučenin se dá rozdělit do tří základních skupin na základě struktury:

- a) nitromusk sloučeniny
- b) polycyklické musk sloučeniny
- c) makrocyclické musk sloučeniny
- d) nové musk sloučeniny.

2.4.1 Nitromusk sloučeniny

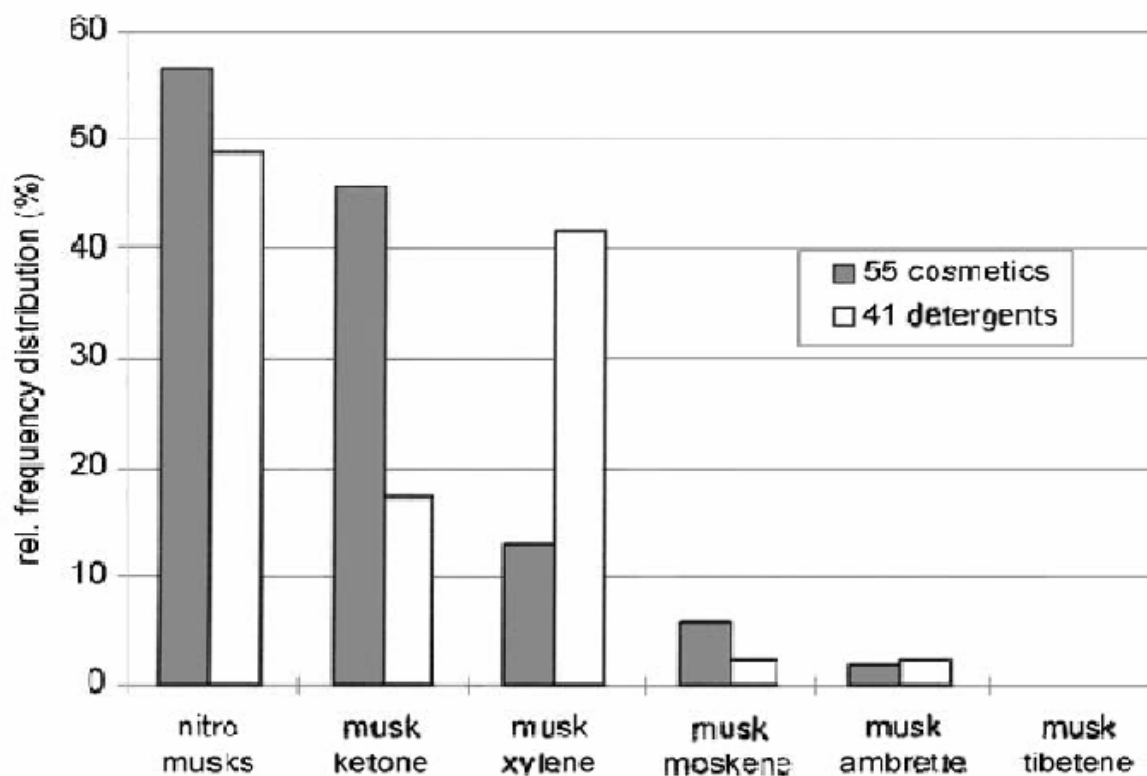
Do historie se tato skupina zapsala poprvé roku 1891, kdy byla připravena Albertem Baurem trinitro- sloučenina, které později získala název Baurovo pižmo. Tento objev byl proveden na vývojovém poli výbušnin jako náhoda, která získala potenciál v naprosto odlišném poli.

Jako první se prodával 10% roztok za cenu 500 dolarů za kilo, což byla v té době zhruba polovina ceny, za kterou se prodávala pravá mošusová tinktura. Procesem derivace vzniklo z této sloučeniny mnoho dalších sloučenin s podobnou vůní. Díky nízkým finančním nákladům a obecné dostupnosti zaznamenaly tyto látky velký rozmach. Jejich největší úspěch byl v počátku jejich výroby. Později se jim vznikla konkurence, a to polycyklické musk sloučeniny a makrocyclické sloučeniny. Použitelnost nitro musk sloučenin byla však universální, přes mýdla a prací prášky, kosmetiku, až po čisticí prostředky [1, 37] .

Mezi nejznámější nitro musk sloučeniny patří musk keton, musk xylen, musk ambrette, musk tibeten a musk moskene. Jsou to dinitro- až trinitro- deriváty benzenu s alkylovou skupinou, keto nebo methoxy skupinou. Musk moskene byl syntetizován v roce 1955 a může být na něj pohlíženo jako na mezistupeň mezi nitro musk sloučeninami a polycyklickými musk sloučeninami [14].

V dnešní době se sleduje jejich množství v přírodě. Počátek tohoto sledování můžeme najít v roce 1981, kdy byly poprvé zjištěny v životním prostředí. Provádí se s nimi série ekotoxikologických a toxikologických testů. U vybraných nitro musk sloučenin již byla prokázána karcinogenita. Rovněž se sledují produkty jejich degradace [2].

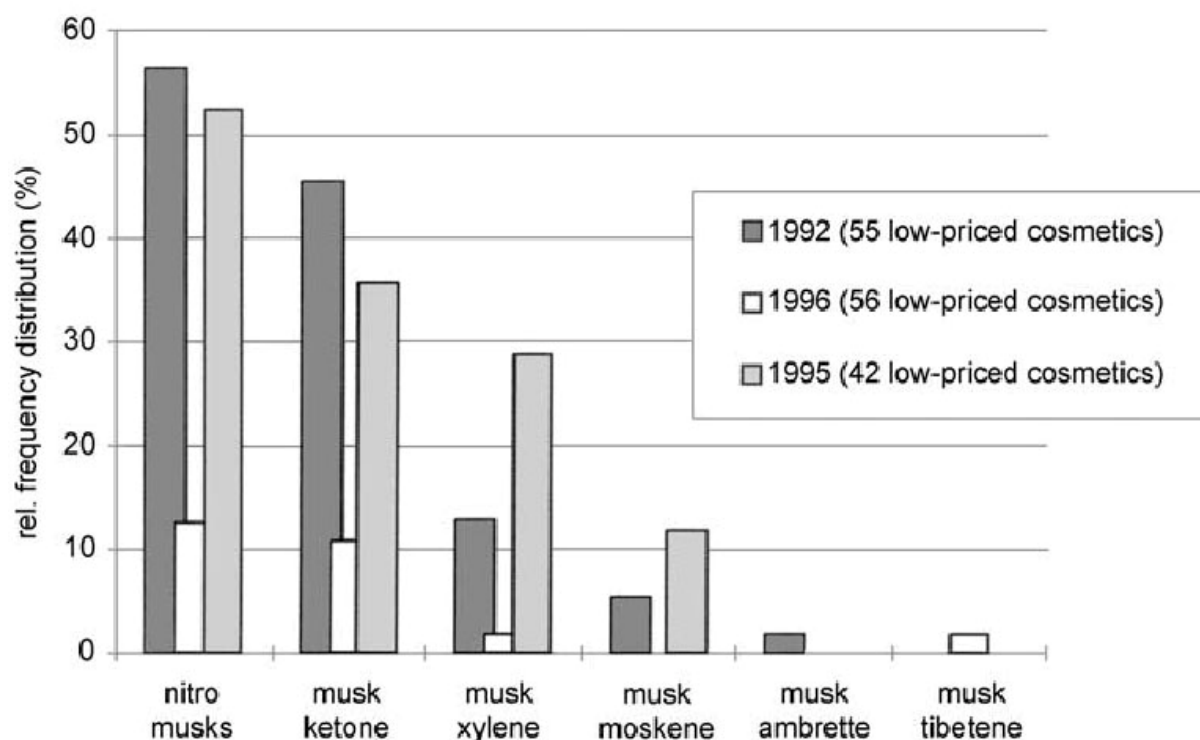
V zájmu konkretizace, které kosmetické prostředky a které detergenty jsou zdrojem nitromusk sloučenin, byl v Německu proveden v roce 1992 rozsáhlý průzkum. Bylo zjištěno, že se nejčastěji vyskytovaly musk keton a musk xylen. Zatímco musk keton byl nejčastěji zjišťován v kosmetických prostředcích - 55 %, tak musk xylen byl nalezen v 41,5 % čisticích prostředků. U musk ketonu byla prokázána koncentrace v kosmetických prostředcích v širokém rozmezí hodnot, a to od 4 až po 2200 mg.kg⁻¹ [14].



Obrázek 2. Distribuce nitro musk sloučenin v kosmetických prostředcích a detergentech [14]

Na základě doporučení Německé kosmetické, parfumářské a detergentní asociace se v Německu již v roce 1993 rozhodli ve veřejné diskuzi nepoužívat musk xylen v produktech, které členská asociace vyrábí. Důvodem byla pravděpodobná bioakumulace této látky a její potenciální karcinogenita.

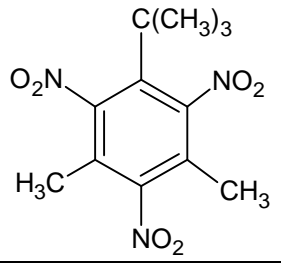
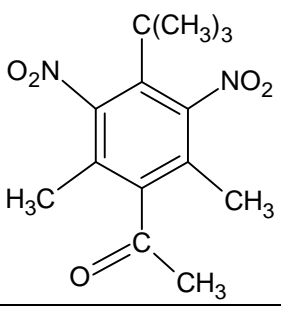
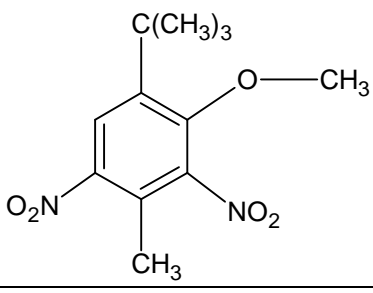
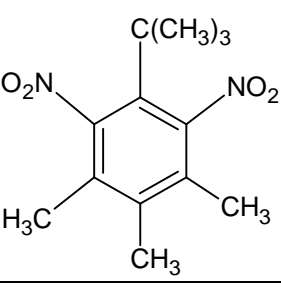
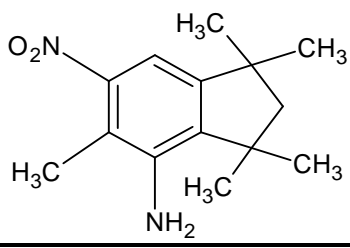
V roce 1995 zakázala Evropská unie používání musk ambrette. Důvodem byla jeho schopnost způsobovat fotosenzitivitu u osob používající výrobky, které jej obsahují [14].



Obrázek 3. Změna distribuce nitro musk sloučenin v Německu v období 1992 - 1996 [14]

Nové poznatky o nitro musk sloučeninách měly vliv na tvorbu nové legislativy a to jak v Evropské unii, tak také v okolních zemích. Rovněž Švýcarsko má stanoveny své vlastní limity pro obsah nitro musk sloučenin v kosmetice a detergentech, a to 50 mg.kg^{-1} . Klesající tendence používání nitro musk sloučenin ukazuje i Obrázek 3. Na základě toho lze konstatovat, že celosvětově kleslo zastoupené nitro musk sloučenin z 35% v roce 1987 na 12% v roce 1996 [14].

Tabulka 1. Přehled zástupců nitro musk sloučenin[14]

Název	Triviální název	Empirický vzorec	Strukturní vzorec
1-(1,1-Dimethylethyl)- 3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene	Musk xylen	$C_{12}H_{15}N_3O_6$	
1-[4-(1,1-Dimethyl-ethyl)-2,6-dimethyl-3,5-dinitrophenyl]- ethanone	Musk keton	$C_{14}H_{18}N_2O_5$	
1-(1,1-Dimethylethyl)- 2-methoxy-4-methyl-3,5-dinitro-benzene	Musk ambrette	$C_{12}H_{16}N_2O_5$	
1-(1,1-Dimethylethyl)- 3,4,5-trimethyl-2,6-dinitrobenzene	Musk tibetene	$C_{13}H_{18}N_2O_4$	
2,3-Dihydro-1,1,3,3,5-pentamethyl-4,6-dinitro-1H-indene	Musk moskene	$C_{14}H_{18}N_2O_4$	

2.4.2 Polycyklické musk sloučeniny

Polycyklické musk sloučeniny se začaly objevovat až po 2. světové válce. V padesátých letech 20. století se začíná s jejich výrobou. Jedná se o látky, které neobsahují nitroskupinu a dají se rozdělit do skupin podle struktury na deriváty indanu, tetralinu, kumarinu a tricyklické sloučeniny. Podobně jako nitro musk sloučeniny nemají ani polycyklické musk sloučeniny v přírodě svůj ekvivalent. Jako první byl v roce 1951 syntetizován 6-acetyl-1,1,2,3,3,5-hexamethyl-dihydroindan zvaný Phantolide [14].

V porovnání s nitro musk sloučeninami mají polycyklické musk sloučeniny řadu výhod. Především je to jejich levnější syntéza, dále jsou odolnější vůči alkáliím a jsou stálější na světle. Používají se hlavně v kosmetice a detergentech.

Nejznámějšími zástupci této skupiny jsou 7-acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyltetrahydro-naphtalen (AHTN) a 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta[*q*]-2-benzopyrane (HHCB).

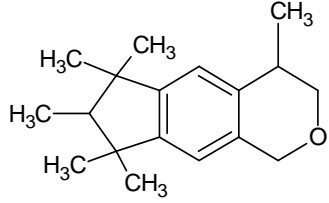
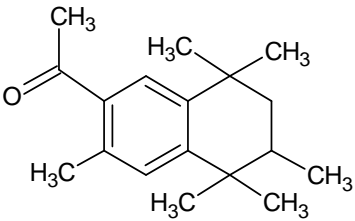
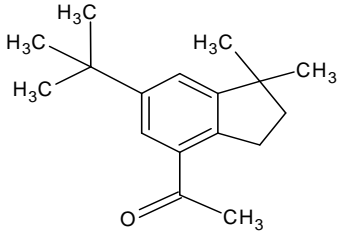
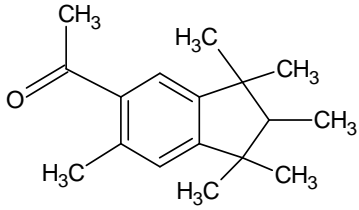
Protože výroba HHCB byla levnější, používalo se v sedmdesátých letech 20. století více HHCB než AHTN. V osmdesátých letech 20. století se situace začala měnit a AHTN se stalo stejně dostupné jako HHCB. Celkově se v tomto období v Evropě a Americe produkovalo cca 1500 tun AHTN a 3800 tun HHCB ročně, což představuje 95 % z celkové spotřeby polycyklických musk sloučenin [14].

S postupným snižováním výroby nitro musk sloučenin roste výroba polycyklických musk sloučenin. Zatímco v roce 1987 měly v prodeji syntetických musk sloučenin zastoupení 61 % což odpovídá 4300 tun ročně, tak v roce 1996 to již bylo 70 % což odpovídá 5600 tun ročně.

V roce 1994 a 1995 byla provedena studie zaměřená na posouzení obsahu HHCB a AHTN v kosmetických výrobcích a detergentech. Bylo prokázáno, že obsah těchto sloučenin se v jednotlivých výrobcích značně lišil. Koncentrace HHCB byla v rozmezí 0,5-500 mg.kg⁻¹ a AHTN v rozmezí koncentrací 1,1-520 mg.kg⁻¹ [14,37].

Nicméně v devadesátých letech 20. století bylo zjištěno, že tyto sloučeniny jsou potenciálně nebezpečné, protože mohou narušovat celulární metabolismus [1].

Tabulka 2. Příklady zástupců polycyklických musk sloučenin[14]

Název	Triviální název	Empirický vzorec	Strukturní vzorec
1,3,4,6,7,8-Hexahydro- 4,6,6,7,8,8-hexamethyl- cyclopenta[<i>g</i>]-2-benzopyrane	Galaxolide	$C_{18}H_{26}O$	
1-(5,6,7,8-Tetrahydro-3,5,5,6,8,8- hexamethyl-2-naphthalenyl)- ethanone	Tonalide	$C_{18}H_{26}O$	
1-[6-(1,1-Dimethylethyl)- 2,3- dihydro-1,1-dimethyl-1 <i>H</i> -inden- 4-yl]-ethanone	Celestolide	$C_{17}H_{24}O$	
1-(2,3-Dihydro-1,1,2,3,3,6- hexamethyl-1 <i>H</i> -inden-5-yl)- ethanone	Phantolide	$C_{17}H_{24}O$	

2.4.3 Makrocyclické musk sloučeniny

Makrocyclické musk sloučeniny se objevily v první polovině 20. století. Ve dvacátých letech 20. století Philippe Chuit, majitel malé voňavkářské společnosti, chtěl poznat strukturu látky odpovědné za vůni pravé mošusové tinktury. Proto v roce 1920 kontaktoval Leopolda Ruzicku z ETH v Curychu. Po několikaletém výzkumu byla tato sloučenina popsána jako 3-methylcyclopentadecan-1-on. Lze proto konstatovat, že Ruzicka tímto objevem otevřel novou oblast organické chemie. Nakonec za tento a ještě další objevy získal v roce 1939 Nobelovu cenu [12].

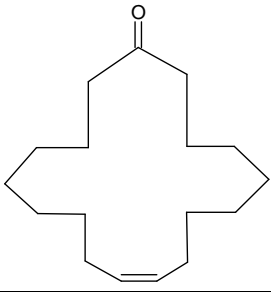
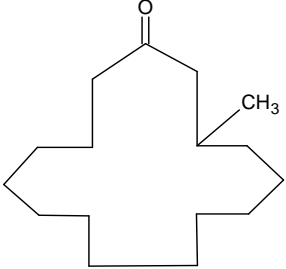
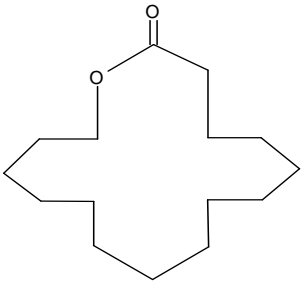
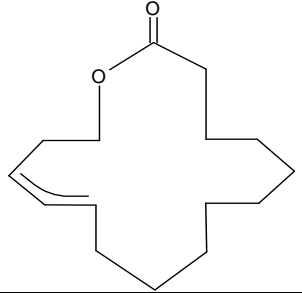
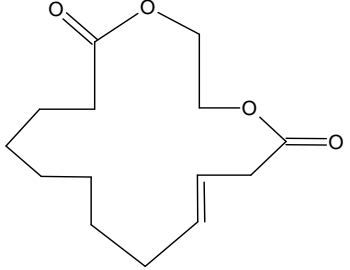
Na podkladě tohoto objevu začaly být syntetizovány další makrocyclické musk sloučeniny mající vůni připomínající pižmo. Byly detekovány v přírodních materiálech a byla identifikována jejich struktura; na základě těchto poznatků byl popsán postup jejich syntézy. Přírodní makrocyclické musk sloučeniny, pokud jsou živočišného původu, mají povahu ketonů a pokud jsou rostlinného původu, mají povahu laktonů. V cyklu mají zařazeno 15 až 17 členů; v rámci jiných studií bylo prokázáno, že látky, které mají již 14 členů v cyklu, vykazují již slabou vůni pižma; látky s 15 a 16 členy ji mají nejsilnější.

Makrocyclické musk sloučeniny se vyznačují vynikajícími vlastnostmi. Jsou stabilní na světle a v alkalickém prostředí, mají výborný fixační charakter a stabilitu vůně. Díky těmto vlastnostem jsou skvělými kandidáty pro průmyslové využití. Proto se hledala cesta jak využít nebo vymyslet jednoduchou, finančně výhodnou cestu k jejich syntéze. Syntetizované makrocyclické musk sloučeniny se dají zařadit do různých skupin: ketony, diketony, laktony, oxalaktony, dilaktony, ketolaktony a estery. Příklady jsou prezentovány v tabulce (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).

Ačkoliv se v přírodě vyskytuje široká paleta těchto látek, existuje celá řada uměle vyrobených makrocyclických musk sloučenin, které mají využití v kosmetickém průmyslu. Mezi nejdůležitější patří dilaktomethylenbrassylát, jehož se produkuje přes 300 tun ročně. Důvodem je jeho jednoduchá syntéza a nízká cena vstupních surovin. Dalším zástupcem je Habanolid a jeho nenasycená forma Exaltolid.

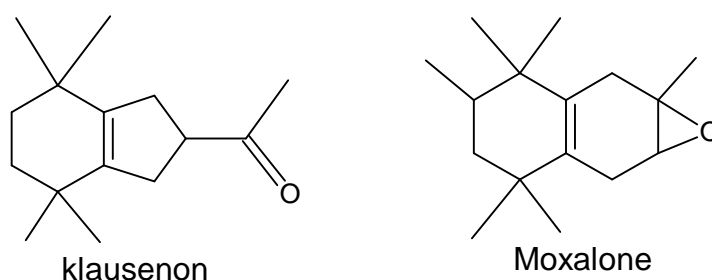
Syntéza makrocyclických sloučenin obecně není jednoduchá. V mnoha případech se jedná o víceetapovou syntézu. Proto je výsledná cena produktů vyšší než cena polycyclických musk sloučenin, což zabraňuje jejich většímu využití. V roce 1996 představovaly svými vyrobenými 8000 tunami ročně celých 5 % ze všech vyrobených musk sloučenin. V budoucnosti se počítá s tím, že jejich význam by se mohl zvyšovat.

Tabulka 3. Přehled struktury makrocyclických musk sloučenin

Název	Triviální název	Empirický vzorec	Strukturní vzorec
9-Cyclohepta-decen-1-one	Civettone	$C_{17}H_{30}O$	
3-Methyl-cyclopenta-decanone	Muscone	$C_{16}H_{30}O$	
Oxacyclohexa-decan-2-one	Exaltolide	$C_{15}H_{28}O_2$	
Oxacyclohexa-decen-2-one	Habanolide	$C_{15}H_{26}O_2$	
1,4-Dioxa-cyclohepta-decane-5,17-dione	Ethylene brassylate	$C_{15}H_{26}O_4$	

2.4.4 Nové musk sloučeniny

V roce 1979 objevil M. Klaus z firmy F. Hoffmann-La Roche náhodou, podobně jako svého času Bauer, novou sloučeninu s vůní pižma. V průběhu syntézy aromatických retinoidů syntetizoval hexahydroinden, který díky své intenzivní vůni získal interní název klausenone. Jeho struktura neobsahuje aromatický polycyklus, a proto je jeho vůně překvapující. Během snahy vytvořit jeho průmyslovou syntézu, která se ukázala obtížnější než se čekalo, se ověřovaly také methylové deriváty klausenonu. Tehdy byl objeven meziprodukt syntézy, který měl lepší vlastnosti než původní klausenon. Jedná se o epoxidový meziprodukt vedoucí k methylklausenonu. Byl nazván Moxalone [12].



Obrázek 4. Struktura klausenonu a Moskalonu [12]

2.4.5 Charakteristika sledovaných musk sloučenin

Přítomnost musk sloučenin byla hodnocena v odpadních vodách pocházejících z kosmetické výroby. Na základě charakteru výrobků byly vybrány zástupci musk sloučenin, kteří se ve výrobě používaly nejčastěji. Jednalo se o nitromusk sloučeniny (musk keton a musk ambrette) a polycyklické musk sloučeniny Galaxolid (HHCB) a Tonalid (AHTN).

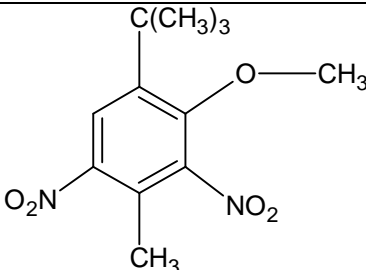
2.4.5.1 Musk keton

Tabulka 4. Souhrn fyzikálních vlastností musk ketonu [16, 42]

IUPAC název	4-tert-butyl-3,5-dinitro-2,6-dimethylacetophenone
CAS	201-328-9
Empirický vzorec	$C_{14}H_{18}N_2O_5$
Strukturní vzorec	
Molární hmotnost	294,3 g/mol
Vzhled	světle žluté krystaly
Bod tání:	137 °C
Tlak par	0,004 mbar
Bod vzplanutí	> 100 °C
Rozpustnost	0,46 mg/l ve vodě
Log K _{OW}	4,3

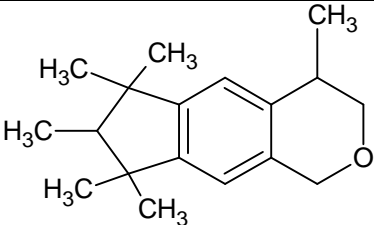
2.4.5.2 Musk ambrette

Tabulka 5. Souhrn fyzikálních vlastností musk ambrette [15, 42]

IUPAC název	1-(1,1-dimethylethyl)-2-methoxy-4-methyl-3,5-dinitrobenzene
CAS	83-66-9
Empirický vzorec	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₅
Strukturní vzorec	
Vzhled	světle žluté krystalky
Molární hmotnost	268.3 g/mol
Bod tání:	85,0 °C
Bod vzplanutí	104,4 °C
Log K _{ow}	3,71

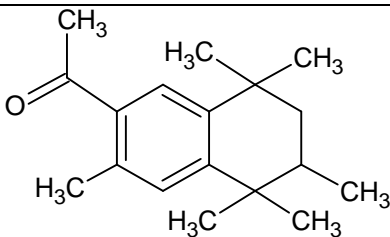
2.4.5.3 Galaxolid

Tabulka 6. Souhrn fyzikálních vlastností musk galaxolidu [17, 42]

IUPAC název	1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-cyclopenta[γ]-2-benzopyrane
CAS	1222-05-5
Empirický vzorec	C ₁₈ H ₂₆ O
Strukturní vzorec	
Molární hmotnost	258,4 g/mol
Vzhled	bezbarvá viskózní kapalina
Bod tání:	-57,9 °C
Tlak par	6,08 mbar
Bod vzplanutí	> 100 °C
Log K _{ow}	4,3

2.4.5.4 Tonalid

Tabulka 7. Souhrn fyzikálních vlastností musk tonalid [18, 42]

IUPAC název	6-acetyl-1,1,2,4,4,7-hexamethyltetralin
CAS	1506-02-1
Empirický vzorec	C ₁₈ H ₂₆ O
Strukturní vzorec	
Molární hmotnost	258,4 g/mol
Vzhled	bílé krystalky
Bod tání:	57 °C
Tlak par	7,27 mbar
Bod vzplanutí	> 100 °C
Log K _{OW}	5,4

2.4.6 Souhrn fyzikálních a chemických vlastností syntetických musk sloučenin.

Syntetické musk sloučeniny jsou organické sloučeniny se semivolatilní povahou. Mají lipofilní charakter a dobře se rozpouští v organických rozpouštědlech. Mají malou schopnost rozpouštět se ve vodě díky svému nepolárnímu charakteru. Molární hmotnost je v rozmezí 200-300 g.mol⁻¹.

U musk ketonu a musk ambrette je poměrně nízký tlak par. Proto spíše zůstávají v roztoku. Naproti tomu galaxolid s tonalidem se vypařují dobře. Rozdíl mezi tenzí par je u galaxolidu zhruba 1000x vyšší než u musk ketonu.

V důsledku stability struktury se tyto látky řadí mezi potenciální organické polutanty (POP's). Lipofilní charakter a vysoká hodnota rozdělovacího koeficientu voda/n-oktanol (K_{OW}) je předurčuje k biokoncentraci a potenciální bioakumulaci.

2.5 Musk sloučeniny v životním prostředí

Chování syntetických musk sloučenin v životním prostředí je založeno na jejich chemických a fyzikálních vlastnostech. V této kapitole bude zmíněn jejich vstup do životního prostředí, jejich výskyt v jednotlivých složkách životního prostředí, jejich degradace, metabolizace a bioakumulace.

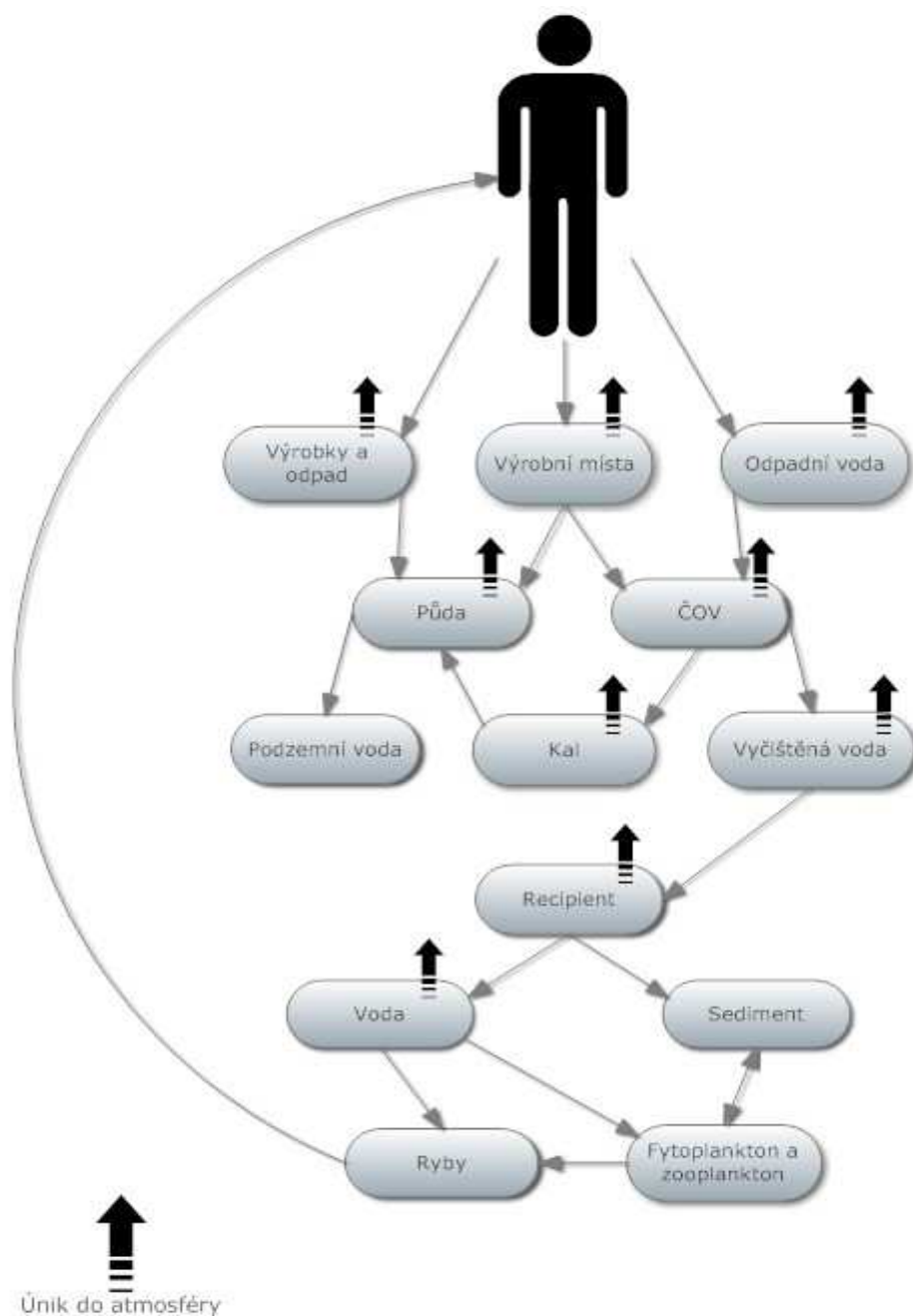
2.5.1 Vstup syntetických musk sloučenin do životního prostředí.

S musk sloučeninami se můžeme v dnešní době setkat v mnoha složkách životního prostředí. Zasahují jak do vodního prostředí, tak do půdy a ovzduší. Díky jejich schopnosti bioakumulace se vyskytují i v potravním řetězci.

Na Obrázek 5. je znázorněno schéma úniku musk sloučenin z míst jejich produkce a spotřeby do odpadních vod. Ty putují do čistíren odpadních vod a z nich do recipientu. V odpadní vodě, a to během výroby a spotřeby, stejně jako v recipientu, se uvolňují syntetické musk sloučeniny do atmosféry; důvodem je jejich semivolatilní charakter. Po celé trase jejich koloběhu se ustanovuje rovnováha mezi obsahem musk sloučenin ve vodě a v sedimentu. Vyšší organismy (ryby) žijící v tomto prostředí jsou v důsledku toho vystaveny působení těchto látek v ekosystému. Díky nepříznivým hodnotám K_{ow} dochází k jejich akumulaci v tukové tkáni živých organismů. Toto je jedna z cest, kterou se musk sloučeniny dostávají do potravního řetězce. Zatím se nepotvrdilo, že do organismu člověka se tyto látky dostávají potravním řetězcem. U člověka je hlavní cestou vstupu pokožka a sliznice dýchacího ústrojí.

Studie prokázaly, že se musk sloučeniny vyskytují na nejrůznějších místech vodních ekosystémů, dále v pedosféře a atmosféře.

Jelikož se za největší zdroj úniku musk sloučenin považuje odpadní voda pocházející z městských aglomerací, která směřuje do čistíren odpadních vod, dá se usuzovat, že největší koncentrace musk sloučenin bude v okolí výpusti čistírny odpadní vody do recipientu.



Obrázek 5. Schéma průniku musk sloučenin do životního prostředí

2.5.2 Výskyt v jednotlivých složkách životního prostředí

2.5.2.1 Hydrosféra

Česká republika v rámci projektu Ministerstva životního prostředí provedla celkový monitoring zátěže vodního ekosystému xenobiotiky. Jednou skupinou sledovaných látek byly syntetické musk sloučeniny, a to hlavně nitromusk sloučeniny - musk keton a musk xylen a polycyklické musk sloučeniny, galaxolid a tonalid. Pro porovnání byla použita podobná studie, která proběhla v Německu v devadesátých letech 20. století. Důvod, proč byly tyto látky sledovány je ten, že je zařazován mezi perzistentní organické polutanty se schopností bioakumulace. Tyto vlastnosti potvrdila právě výše zmíněná německá studie. Bylo zjištěno, že ke kontaminaci dochází proto, že čistírny odpadních vod nejsou schopny tyto látky účinně

degradovat, popřípadě sorbovat na pevné matrice. Účinnost čištění na jednotlivých čistírnách odpadních vod kolísá v rozmezí 34-87 % pro nitro musk sloučeniny a 60-86 % pro polycyklické musk sloučeniny.

V roce 1996 byla provedena předběžná analýza která prokázala, že rozsah kontaminace populace ryb ve sledované lokalitě byl rozsáhlý. Oblast, která se monitorovala, byla na řece Labi v Hřensku. Celkem bylo analyzováno více než 650 vzorků z 11 lokalit na řekách Labe, Vltava a Tichá Orlice [19].

Nejčastěji byl detekován galaxolid a tonalid. V rybách se vyskytovaly koncentrace v rozmezí od $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ do $7,8 \text{ mg.kg}^{-1}$. Největší kontaminace vody, ryb a sedimentů je pod městskými aglomeracemi, zatímco dále po proudu úroveň kontaminace klesá, a to pravděpodobně v důsledku naředění, sorbce nebo postupné degradace [20].

Velký problém mohou způsobovat také metabolity těchto látek vyskytujících se v těle ryb. Jako příklad lze uvést výskyt aminoderivátů musk sloučenin. Platí to především pro $\text{NH}_2\text{-MX}$, jehož koncentrace jsou mnohdy vyšší než koncentrace mateřské látky [19].

Z literatury je známo, že Evropa a Severní Amerika mají největší produkci musk sloučenin připadajících na jednoho občana. Poměrně vysoké hodnoty byly zjištěny v Číně, protože v hustě obydlených aglomeracích jsou vypouštěná množství syntetických musk sloučenin vysoká. Například v Šanghaji bylo vypuštěno cca 1,26 t HHCB za rok a 0,38 t AHTN za rok [38].

2.5.2.2 Atmosféra

Podle studie prováděné v Air Pollution Research Center, University of Kalifornie, se odhaduje životnost, resp. čas, než tyto látky podlehnou radikálovým reakcím nebo fotolýze, v řádu hodin. To platí především pro galaxolid a tonalid. Musk keton má poločas rozpadu v atmosféře 12,5 dne. Rozdíl mezi polycyklickými a nitro musk sloučeninami je v tom, že se předpokládá rychlejší reakce s hydroxylovými radikály u polycyklických musk sloučenin. Nepředpokládá se však, že atmosféra je rovněž významný zdroj kontaminace. [6], [21]

Ačkoliv je jejich koncentrace v atmosféře nízká, mohou i tyto nízké koncentrace způsobovat lokální problémy. Organizace Greenpeace analyzovala v Nizozemí dešťovou vodu, u které byla posuzována přítomnost musk sloučenin. Studie poskytla zajímavé výsledky. Ve všech vzorcích byl přítomen galaxolid a téměř všude tonalid. Zatímco musk keton byl objeven ve 4 % vzorků, musk xylen nebyl detekován vůbec, na rozdíl od musk ambrette, který se vyskytoval v 36 % vzorků. Koncentrace byly velmi rozdílné a pohybovaly se v řádech jednotek až desítek nanogramů na litr. Na základě výsledků bylo konstatováno, že pokud by průměrná koncentrace byla 10 ng.l^{-1} v dešťové vodě, tak při průměru 700 mm srážek ročně by na území $200 \times 200 \text{ km}^2$ dopadlo přes 280 kg musk sloučenin za rok. Tyto hodnoty lze předpokládat v místech výroby kosmetických produktů [6].

2.5.2.3 Pedosféra

Jak již bylo řečeno, musk sloučeniny se dostávají do půdy srážkami. Bohužel to však není jediná cesta, kterou se tyto látky do půdy dostávají. Dokonce lze konstatovat, že zastává jen malou roli. Hlavním zdrojem kontaminace půdy jsou kaly z čistíren odpadních vod.

Zpracovávání čistírenských kalů do zemědělské půdy je u nás v České republice běžnou praxí. Celá věc je v současnosti ošetřena vyhláškou 382/2001 Sb. „*O podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě*“. V této vyhlášce však není žádná zmínka o musk sloučeninách. Kaly obsahují vysoké procento organických látek, a proto se dají použít jako

hnojivo. Musk sloučeniny jsou v důsledku své lipofilní povahy vázány právě na kal. Odtud se do půdy dostávají vymýváním z kalů. Takto suspendované musk sloučeniny jsou vystaveny působení fyzikálních mechanismů a mikroorganismů.

Polycyklické musk sloučeniny byly detekovány ve všech typech čistírenských kalů, a to až do koncentrací $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [40].

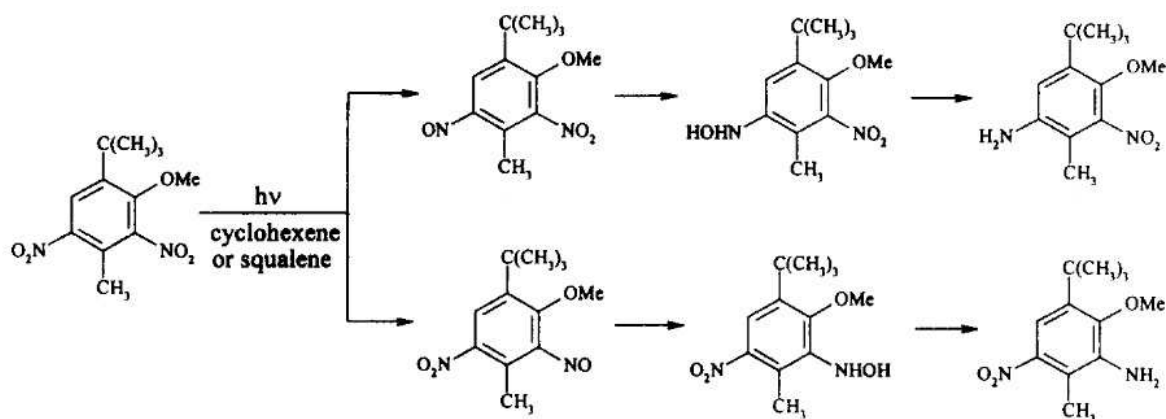
2.5.3 Degradace

Jak již bylo zmíněno výše, patří musk sloučeniny mezi perzistentní organické polutanty. Mezi tzv. potenciální perzistentní polutanty řadíme galaxolid s tonalidem, zatímco musk keton patří do kategorie perzistentních organických polutantů.

Při jejich degradaci přichází v úvahu činnost mikroorganismů, a to fotolýza, reakce s radikály a ozonem v atmosféře.

2.5.3.1 Fotodegradace

Tyto chemické děje probíhají primárně tam, kam proniknou fotony, tj. v atmosféře, případně v kapalinách. Na obrázku 6 je znázorněna degradace musk ambrette působením fotonů. Děje byly sledovány v roztoku cyklohexanu a skvalenu. Hodnotil se také vliv atmosférického kyslíku. Bylo zjištěno, že musk ambrette se pohotově rozkládá jak za přítomnosti kyslíku, tak bez jeho přítomnosti. Během 3 hodin došlo k rozpadu až 97 % přítomného musk ambrette, a to bez ohledu na přítomnost kyslíku [22].



Obrázek 6. Rozklad musk ambrette v cyklohexanu a skvalenu (viz výše)[22]

Další pokusy byly prováděny s celou řadou nitro musk sloučenin, tj. musk xylen, musk keton, musk tibeten, musk ambrette a musk mosken. Reakce probíhaly v nasycených vodných roztocích těchto látek v koncentracích od $13 \text{ ug} \cdot \text{l}^{-1}$ pro musk tibeten po $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ pro musk keton.

Výsledkem bylo zjištění, že všechny nitro musk sloučeniny po vystavení UV záření jsou fotodegradabilní a podléhají fotolýze. Po jedné hodině klesla jejich koncentrace pod 1/100 jejich původní koncentrace, avšak po 5 hodinách byly stále zachytitelné jejich produkty rozpadu. Na podkladě toho lze říci, že produkty rozpadu nitro musk sloučenin jsou stabilnější než mateřské molekuly [23].

V atmosféře se předpokládá reakce s hydroxylovými radikály a ozonem. Reakce probíhající v atmosféře se dají srovnat s reakcí v nepolárním rozpouštědle. Vzhledem k tomu,

že poločas rozpadu v cyklohexanu je 8,3 h, a to pod stálým osvětlením, dá se předpokládat, že poločas rozpadu v atmosféře nebude více jak jeden den [24].

2.5.4 Metabolizace a bioakumulace

Z informací, které jsou nám o metabolizaci syntetických musk sloučenin známy víme, že v případě nitro musk sloučenin dochází k redukci právě na nitroskupinách, kde probíhá jejich přeměna na amino skupinu. Jako důkaz slouží výskyt těchto amino derivátů v čistírenských kalech. Stále však máme nedostatek informací z této oblasti. Můžeme pouze konstatovat, že vlastnosti takto vzniklých metabolitů jsou odlišné od původních - mateřských molekul. Jako příklad slouží redukce musk ketonu z MK na 2-NH₂ -MK

Schopnost bioakumulace těchto sloučenin souvisí s jejich lipofilní povahou. Tomu napovídá již výše zmíněná hodnota K_{OW} u jednotlivých vybraných sledovaných zástupců. Jak už samotný pojem napovídá, jedná se o proces, kdy se látka dostává do těla organismu a koncentruje se v jeho tkáních. V případě lipofilních polutantů se ukládá především v tuku.

Velká část studií provedená na toto téma byla zaměřena na vodní biotu. Studovalo se množství nitro musk sloučenin a polycyklických musk sloučenin kumulovaných v tukové tkáni ryb, v jejich svalovině, popřípadě v ostatních orgánech. Jedna ze studií uvádí koncentrace galaxolidu v tukové tkáni v rozsahu 5-160 µg.g⁻¹ a tonalidu 3-45 µg.g⁻¹. U musk ketonu byla koncentrace 300-1800 ng.g⁻¹. Výsledky této studie také prokázaly, že ve většině vzorků ryb byla koncentrace metabolitů vyšší než koncentrace mateřských sloučenin [5].

Tabulka 8. Shrnutí bioakumulačních vlastností [5]

Název	Data		
	K _{OW}	BFC	Bioakumulace
Musk keton	3,2 - 4,3	laboratorní testy - 1600 další testy 60 - 5000	NE
Tonalid	5,4 - 5,7	změřeno - 600; 597	NE
Galaxolid	5,3 - 5,9	změřeno - 1584; 624	NE

Ve pokuse prováděném na krysách se studoval vliv věku a pohlaví na bioakumulaci. Největší koncentrace musk sloučenin se nacházely v pokožce; koncentrace zjištěné u samic v pokožce byly 3,6-6,8 x vyšší než koncentrace prokázané u samců. Pokud se hodnotila koncentrace těchto analytů v krvi, bylo konstatováno, že pohlaví nemá na koncentraci musk sloučenin žádný podstatný vliv [39].

2.5.4.1 Musk sloučeniny a člověk

Je nutno upozornit na to, že člověk je vystaven působení musk sloučenin za prvé jako jejich producent a za druhé jako jejich spotřebitel. Není proto divu, že jejich výskyt byl prokázán také ve tkáních člověka. Pomocí studie zpracované v USA bylo zjištěno, že přítomnost galaxolidu byla prokázána ve všech testovaných vzorcích lidského tuku. Koncentrace se vesměs pohybovaly v rozmezí 6,1-435 ng.g⁻¹ nativního vzorku. Průměrný obsah byl 97 ng.g⁻¹. Tonalid byl detekován v 86 % případech. Jeho koncentrace se pohybovala v rozmezí <5-64 ng.g⁻¹. Průměrný obsah tonalidu byl 23 ng.g⁻¹. Vyšší koncentrace galaxolidu se dá pravděpodobně vysvětlit jeho vyšší produkcí v dřívějších letech.

Dermální absorpci nitro musk sloučenin, konkrétně musk xylenu, musk ketonu a musk ambrette, se zabývá další studie. Studie byla prováděna na pokožce zad zdravých dobrovolníků. Testovaná plocha byla 100 cm², dávka polutantů v rozmezí 10 - 20 µg.cm⁻² a doba expozice šest hodin. V průběhu 5 dnů byly analyzovány vzorky moče a exkrementů. Na základě výsledků této studie lze konstatovat, že se absorbovala 2,0 % musk ambrette, 0,5% musk ketonu a 0,3% musk xylenu. Většina vyloučené látky byla přítomna v moči, méně než 10 % bylo vyloučeno exkrementy. V krevní plasmě se nezachytily žádné stopy adsorbovaných látek. V moči se všechny tři látky nacházely ve formě konjugátu glukoronidu [25].

Mateřské mléko a jeho zatížení musk sloučeninami bylo předmětem další německé studie. Sledovány byly stopy musk ketonu a musk xylenu. Obě dvě sloučeniny byly detekovány ve všech vzorcích. Celkově se analyzovalo 15 vzorků pocházejících od různých matek s různým počtem dětí a rozdílnou dobou kojení. Věk matek se pohyboval v rozmezí 27 - 42 let. Maximální počet dětí byl tři, většina žen však měla dvě děti. Koncentrace musk ketonu se pohybovaly v rozmezí 0,01 - 0,09 mg.kg⁻¹, musk xylen byl kvantifikován v rozmezí 0,02-0,18 mg.kg⁻¹. V několika vzorcích byl identifikován i musk ambrette, a to ve velmi nízkých koncentracích.

Výskyt těchto POPs v krvi potvrzuje také práce zpracovaná ve Vídni, na lékařské fakultě Vídeňské univerzity. Celkem se testů na obsah musk sloučenin zúčastnilo 100 subjektů, 55 žen a 45 mužů. Jejich věkový průměr byl 23 let a věkové rozmezí bylo 19 - 43 let. Získaná data zohledňovala BMI index a četnost používání kosmetických prostředků (viz **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).

Tabulka 9. Body mass index (BMI), tloušťka podkožního tuku, typ pokožky, konzumace ryb a používání kosmetiky (n = 100)

Parameter	
BMI (Md, [Q1-Q3])	22 [20-23]
SST (Md, [Q1-Q3])	15 [12-18]
Skin type	
Normal	62%
Dry	31%
Oily	7%
Fish consumption (at least once a week)	50%
Use of creams (daily)	
On face	25%
On hands	40%
On body	46%
Use of (daily/more than once a day)	
Body lotion	17%
Perfumes	54%
Deodorants	70%
Shampoo	21%
Fragrance oil	3%
Spray (air freshener)	3%

Musk xylen byl zjištěn v 79 % případů a musk keton v 17 % případů. Maximální koncentrace musk xyleny byla 60 ng.l^{-1} a musk ketonu 67 ng.l^{-1} . Ve dvou případech byl detekován rovněž musk ambrette.

2.5.5 Toxicita

U všech vybraných reprezentantů byl proveden test Aimsův test mutagenity s negativním výsledkem [26], [27], [28], [29]

Tabulka 10. Souhrn toxikologických vlastností vybraných syntetických musk sloučenin [26, 27, 28, 29]

Název	Data		
	typ testu	NOEC	Doplňující informace
Musk keton	21 denní test na rybách	$0,063 \text{ mg.l}^{-1}$	není důkaz potencionální endokrinní disrupce
Tonalid	32 a 36-ti denní test na rybách	$0,035 \text{ mg.l}^{-1}$	není důkaz potencionální endokrinní disrupce
Galaxolid	36-ti denní test na rybách	$0,068 \text{ mg.l}^{-1}$	není důkaz potencionální endokrinní disrupce

U musk ketonu byl proveden test genotoxicity s negativním výsledkem u myší. Společně s negativním Aimsovým testem dospěli v této studii k závěru, že musk keton nemá významný potenciál stát se genotoxickým karcinogenem [41].

2.6 Ultrafiltrace

Základem této čistící technologie jsou polopropustné membrány. Ty propouští molekuly vody a podle typu membrány i další částice o určité velikosti a o daném elektrickém náboji.

Hlavním parametrem polopropustných membrán je velikost pórů. Póry určují velikost částic, které membránou projdou. Pokud oddělíme polopropustnou membránou dva roztoky o rozdílné koncentraci, začne prolínání vody do koncentrovanějšího roztoku. Díky membráně neprochází látky z koncentrovanějšího roztoku do méně koncentrovaného. Bez membrány by došlo postupem času k vyrovnání koncentrací v celém objemu roztoku, avšak díky membráně stále pokračuje přechod molekul vody do koncentrovanějšího roztoku. Roste jeho objem a hydrostatický tlak. Příslušný děj končí v okamžiku vyrovnání osmotického tlaku s tlakem hydrostatickým [13].

Pokud je v uspořádání s polopropustnou membránou roztok s vyšší koncentrací vystaven vyššímu tlaku než je tlak hydrostatický, začnou molekuly vody přecházet do roztoku s koncentrací nižší. Koncentrovaný roztok se potom stává ještě koncentrovanější.

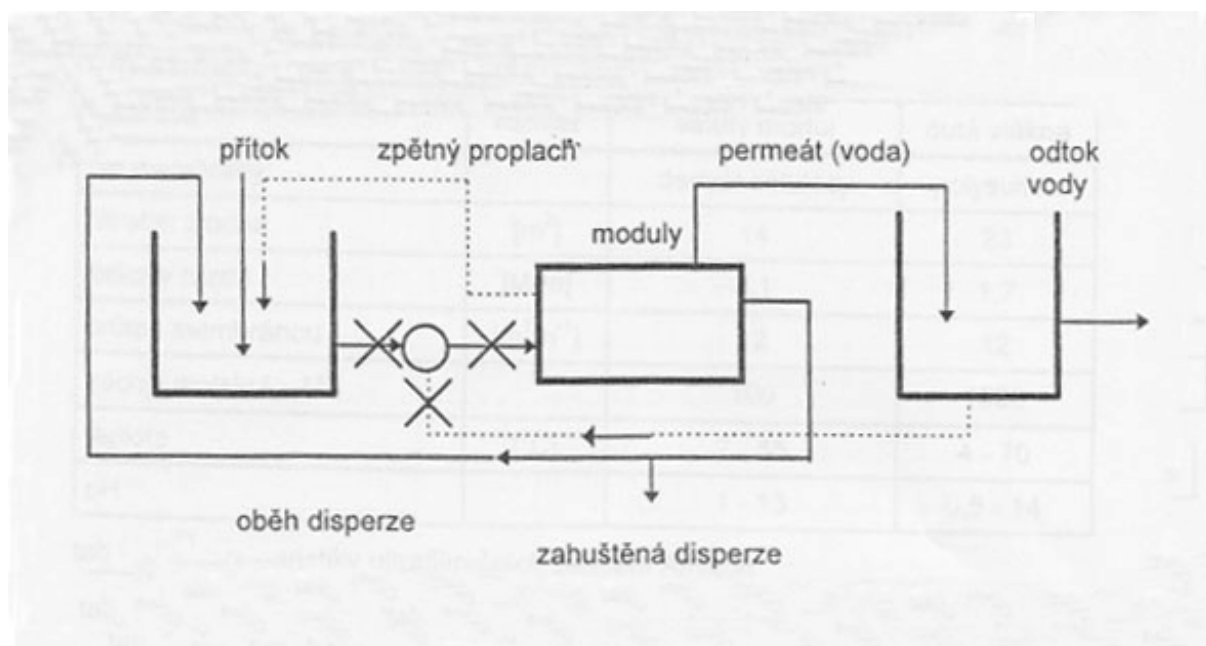
Pro polopropustné membrány, které mají mít využití v průmyslu platí, že musí disponovat konkrétními vlastnostmi:

- a) vysoká rozdělovací schopnost
- b) velká permeabilita (průtočnost)
- c) vysoká mechanická pevnost
- d) chemická a bakteriální odolnost
- e) odolnost vůči čištění
- f) dlouhá doba životnosti
- g) nízká cena [13].

V praxi však musíme počítat s kompromisem mezi těmito vlastnostmi, a je proto zapotřebí vybírat takovou membránu, která splňuje nejlépe naše požadavky.

Samotná ultrafiltrace je vhodná pro práci s částicemi od 5 μm do 0,1 μm . Tato velikost odpovídá částicím o relativní molekulové hmotnosti od 10 000 do 100 000. Její nejvhodnější použití je založeno na separaci olejových emulzí a na separaci hydroxidů kovů vyloučených v koloidní formě [13].

Princip zařízení je znázorněn na Obrázek 7. Filtrovaný roztok je pod tlakem veden modulem, kde voda s částicemi menšími než jsou póry membrány prochází membránou a tvoří permeát. Suspenze, popř. emulze, je postupně zakonzentrována a podle potřeby odváděna [13].



Obrázek 7. Schéma zařízení pro cirkulační způsob provozu [13]

Použitelnost ultrafiltrace je pro celou řadu zařízení a provozů, například mycí zařízení aut, odpadní vody elektrochemického lakování, odpadní vody textilního průmyslu, odpadní vody z prádel a kosmetického průmyslu, tj. v podstatě tam, kde jsou nepolární extrahovatelné látky [13].

2.7 Dermacol

2.7.1 Historie firmy

Historie firmy sahá až do 60tých let 20. století, kdy začíná spolupracovat Ústav lékařské kosmetiky a Filmové studia Barrandov. Jejich spoluprací vznikla řada kvalitních krycích „make-up“ prostředků, jejichž licence byly prodány až do Hollywoodu.

Počátkem 70-tých let začíná Dermacol vyvíjet celou řadu dalších kosmetických prostředků.

Novodobá historie značky se začíná psát v devadesátých letech 20. století. Její prvopočátky jsou v Praze. V roce 2004 se samostatný výrobní závod přesouvá do Brna. Usídluje se v areálu bývalé sodovkárny Merito, jejíž výroba skončila v roce 2002. Celý areál byl upraven a samotná výroba kosmetiky byla započata v roce 2005 a pokračuje dodnes.

2.7.2 Výrobní závod Brno

Areál výrobního závodu firmy Dermacol se nachází v Brně, ve čtvrti Lesná na ulici Dusíkova. Celý areál prošel rekonstrukcí a od roku 2005 zde započala výroba kosmetických výrobků značky Dermacol.

Samotný areál je složen z několika částí. Je zde „stará“ varna, nová varna, která byla uvedena do provozu v roce 2009 a místo, kde dochází k adjustaci výrobků. Odpadní vody, které byly analyzovány, mají svůj původ pouze v nové varně. Veškeré vody pocházející z výplachů reaktorů a varných kotlů se sbíhají ve speciální místnosti se zásobními tanky. Tyto vody poté procházejí přes ultrafiltrační zařízení. Vody následně pokračují do městské kanalizace.

2.8 Analytická chemie musk sloučenin

Při vlastní analýze je třeba brát v úvahu několik důležitých ukazatelů. Syntetické musk sloučeniny lze začlenit mezi semivolatilní nepolární organické látky. Jejich výskyt v přírodě je prokazatelný, avšak jejich koncentrace jsou velmi nízké. Tento ukazatel je zapotřebí brát v úvahu jak při manipulaci, tak při samotné analýze.

Díky nízkým koncentracím a jejich těkavosti může docházet ke kontaminaci vzorku. Pracovník-analytik musí dbát na to, aby se nekontaminoval sledovanými látkami. Ty jsou obsaženy v kosmetice, parfémtech, pracích prostředcích a v dalších výrobcích denní potřeby. Samotná manipulace se standardy musk sloučenin musí být rychlá a přesná. Je nutné proto zajistit, aby se nekontaminoval prostor, ve kterém dochází k manipulaci se vzorky. Laboratorní sklo určené k analýze musk sloučenin musí být umýváno speciálním postupem. Nelze použít standardní detergenty, které musk sloučeniny obsahují. Do čistícího procesu musí být zapojena především směs kyseliny chromsírové, pomocí které lze zamezit kontaminaci z prostředí.

Jednotlivé kroky analýzy:

- a) odběr vzorku
- b) transport do laboratoře
- c) izolace analytu z matrice
- d) identifikace a kvantifikace analytů.

2.8.1 Odběr vzorku

Samotný odběr je důležitý. Vzorek musí být reprezentativní, musí vypovídat o celé lokalitě odběru.

2.9 Transport vzorku.

Vzhledem k povaze analyzovaných látek je třeba provést transport co nejrychleji; vzorkovnicemi jsou tmavé lahve naplněné po okraj, s pevně uzavřeným víčkem. Vzorky nelze zbytečně vystavovat slunečnímu světlu a teplu.

2.9.1 Izolace analytu z matrice

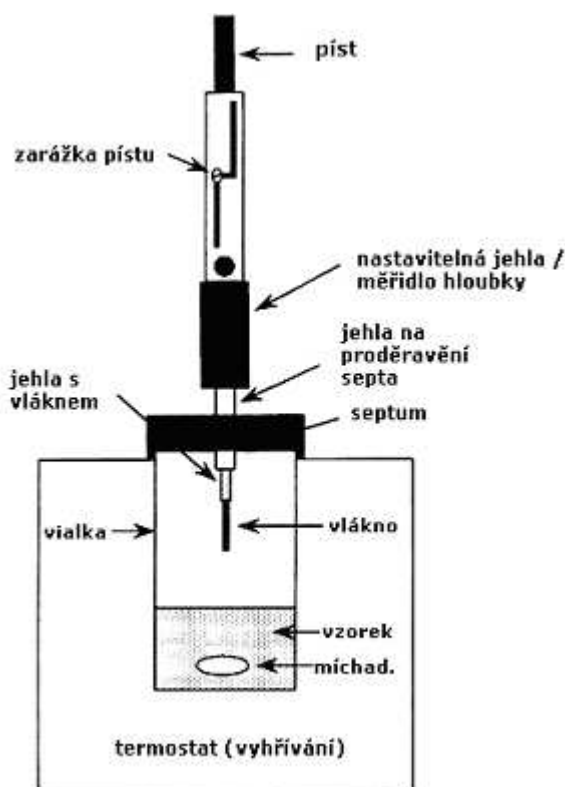
V laboratoři se musí vzorek rychle zpracovat. Pokud je nutné vzorek uskladnit, děje se tak v chladu a temnu. Redukují se tímto ztráty způsobené degradací analytu.

2.9.1.1 Mikroextrakce tuhou fází SPME

Jako vhodnou metodou k izolaci analytu ze vzorku je mikroextrakce tuhou fází, tzv. SPME. Tato technika je velmi jednoduchá a efektivní. Technika SPME byla vyvinuta jako odpověď na potřebu existence rychlé extrakční metody bez potřeby rozpouštědla, která by se dala použít rovněž v terénu.

Celý analytický proces sestává z několika na sebe navazujících kroků, tj. vzorkování, přípravy vzorku, separace, kvantifikace a analýzy získaných dat. Každý krok má vliv na přesnost, správnost a rychlost analýzy. Ačkoliv multi-dimenzionální techniky jako GC/MS zlepšily separaci a kvantifikaci analytu, příprava vzorku stále zabírá spoustu času a je u něj spotřebováváno velké množství organických rozpouštědel. SPME bylo vyvinuto pravděpodobně proto, aby se zjednodušil krok přípravy vzorku. SPME se řadí mezi mikroextrakční metody, což znamená, že množství extrahované látky je velmi malé v poměru k objemu vzorku. Tato metoda spíše preferuje dosažení rovnováhy analytu, místo kompletní extrakce analytu ze vzorku. [30]

Aby se celé zařízení dalo prakticky používat, je extrakční vrstva pevně přichycena ke křemíkovému vláknu. Extrakční vrstvu tvoří polymerovaná organická fáze. Samotná polymerní vrstva slouží navíc k tomu, aby se nepoškodilo křemíkové vlákno, které je velmi křehké. Nejčastěji se používají dva polymery, tj. polydimethylsiloxan a polyacrylát. Polydimethylsiloxan se chová jako kapalina, což znamená, že rychlost extrakce je vyšší než u polyacrylátu, který se chová jako pevná látka. Křemíkové vlákno má běžně rozměr 100-200 μm a tloušťku filmu 10-100 mikronů. Pokud je vlákno s extrakční vrstvou ponořeno do vzorku, začne analyt přecházet do extrakční vrstvy. Extrakce je ukončena ve chvíli, kdy je ustálena rovnováha mezi vzorkem a extrakční vrstvou [30].

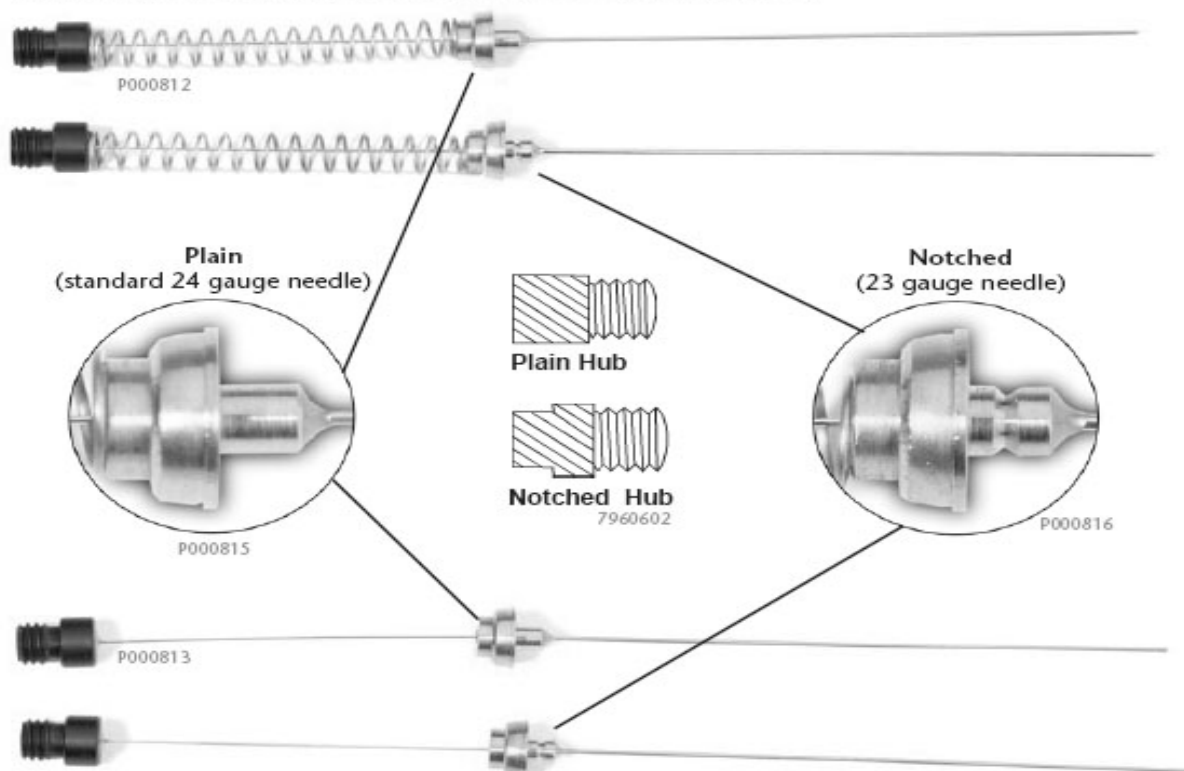


Obrázek 8. SPME vlákno s držákem

Množství extrahovaných analytů je nezávislé na objemu vzorku. Samotné vlákno může být vystaveno vzorkům o různém skupenství, tj. například ve formě plynu nebo kapaliny. Množství extrahovaného analytu je přímo závislé na jeho obsahu ve vzorku. Tento ukazatel velmi urychluje samotný analytický proces a eliminuje ztráty analytu vznikající jejich rozpadem nebo jejich absorpcí na povrchu vzorkovnic [30].

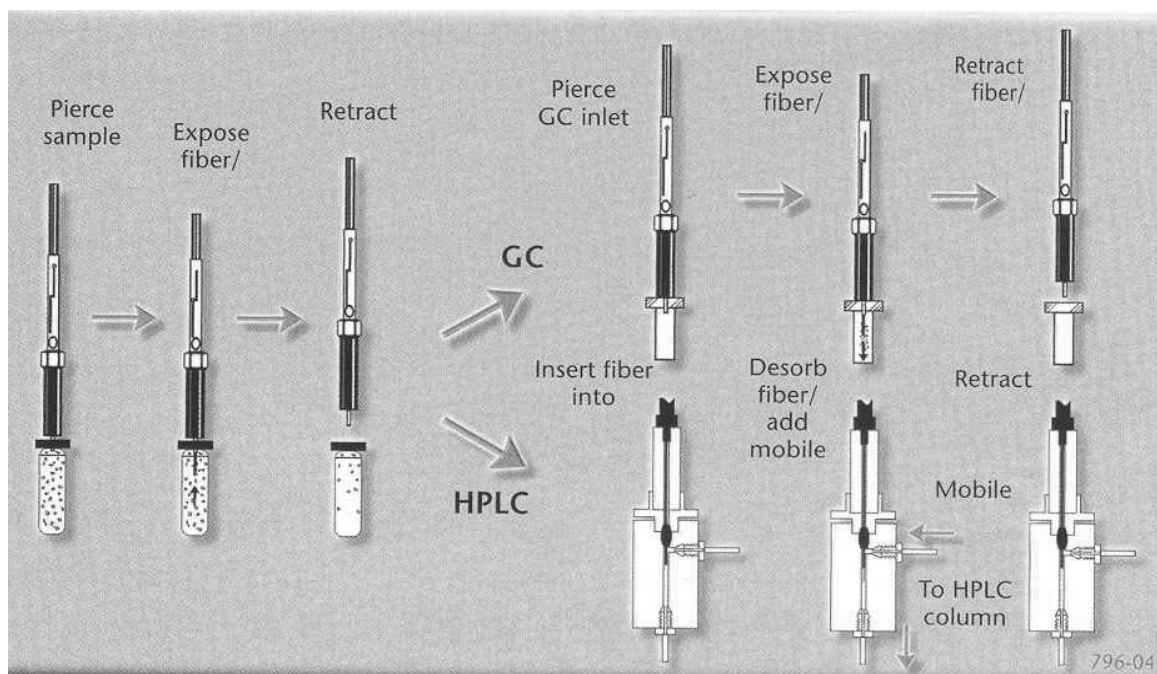
Aby se SPME dalo prakticky použít, a to vzhledem ke křehkosti křemíkového vlákna, bylo vytvořeno speciální zařízení, které v sobě obsahuje křemíkové vlákno. Pohyb vlákna zajišťuje pružina a píst. Pohyb pístu dolů vysune vlákno z jehly. Samotná kovová jehla chrání vlákno před mechanickým poškozením při průchodu septem. Opětovný pohyb pístu nahoru zatáhne vlákno zpět do jehly. Vlákno se potom přenesse a zasune do analytického přístroje (např. GC/MS), kde dojde k desorpci. Během desorpce analytu se samotné vlákno čistí a tak je připraveno k další analýze. Díky absenci rozpouštědel je celá metoda mnohem přátelštější k životnímu prostředí [30].

Fiber Assembly Used With SPME Holder 57330-U (For Manual Use)



Fiber Assembly Used With SPME Holders 57331 and 57347-U

Obrázek 9. Vlákno SPME



Obrázek 10. Práce s SPME

Další důležitou vlastností SPME je samotná velikost zařízení, která umožňuje výborné použití v terénu [30].

Citlivost a limit kvantifikace jsou u SPME srovnatelné s technikami, které jsou spojeny s extrakcí rozpouštědlem. Ačkoliv je extrahováno malé množství analytu z matrice, je veškerý extrahovaný analyt převeden do měřicího zařízení [30].

Z teorie je známo, že máme dvě základní nastavení u extrakce pomocí SPME. K dispozici je přímé ponoření do vzorku a headspace. V případě přímého ponoření je vlákno vloženo do vzorku a analyty jsou extrahovány rovnou z matrice. K urychlení vytváření rovnováhy mezi vláknem SPME a vzorkem se používají různé přídavné techniky, tj. míchání, sonifikace aj. Pohyb kapalných vzorků při přímém ponoření je navíc nezbytný k tomu, aby se zabránilo vzniku „prázdných míst“, respektive míst, kde je nedostatek analytu. Rovnice popisující ustalování rovnováhy při přímém ponoření:

$$n = \frac{K_{fs} V_f V_s C_0}{K_{fs} V_f V_s}, \text{ kde}$$

n	–	množství extrahované látky
K_{fs}	–	distribuční koeficient mezi vláknem a vzorkem
V_f	–	objem extrakční vrstvy na vlákně
V_s	–	objem vzorku
C_0	–	počáteční koncentrace analytu ve vzorku [30].

V nastavení headspace je vlákno umístěno nad hladinou vzorku. Podmínka použití této techniky je v tom, že vzorkovaný analyt musí být dostatečně těkavý. Extrakce metodou headspace je příznivější pro vlákno SPME, protože je tak chráněno před potenciálně škodlivými látkami pocházejícími ze vzorku. Pomocí headspace je možné analyzovat i pevné matrice. Extrakce probíhá nepřímou a je nutno si uvědomit, že těkavější látky se budou v prostoru nad vzorkem vyskytovat ve větší koncentraci než méně těkavé látky [30].

SPME lze úspěšně propojit s GC, HPLC, kapilární elektroforézou a hmotnostní spektrometrií [30].

2.9.1.2 Optimalizace SPME

V první řadě je nutno se rozhodnout, kterou ze dvou možností provedení SPME použijeme.

HS je vhodná pro volatilní látky, vzorkování ovzduší a látky s nízkým bodem varu. Přímé ponoření je vhodné pro netěkavé látky, které zůstávají ve vzorku. V případě, že vzorek obsahuje makromolekulární látky, které mohou ovlivňovat extrakci, případně další nečistoty, je třeba ho upravit. V úvahu přichází filtrace nebo odstředění [31].

Typ vlákna

Jednotlivé typy vláken se liší polaritou, sorpčními vlastnostmi a specifickým povrchem. Nepolární analyty se lépe extrahují vláknem s nepolárním povrchem. Každé vlákno má své výhody a nevýhody. Jako příklad může sloužit stanovení malých těkavých molekul. V jejich případě dochází k rychlému vytvoření rovnováhy; rovněž mají nízkou distribuční konstantu. Proto je důležitá i tloušťka vrstvy a její porozita. Byl sledován i vliv polární vrstvy. Nutno však upozornit na to, že nelze vytvořit univerzální extrakční vrstvu na potažení křemenného vlákna [31].

Proto je k dosažení reprodukovatelných výsledků zapotřebí zvolit správné vlákno. Výběr je závislý právě na vlastnostech hodnocených látek. Mezi faktory, které výběr ovlivňují jsou především molekulová hmotnost, charakter molekuly, polarita, přítomnost funkčních skupin, očekávaný detekční limit a lineární rozsah [31].

Vliv vysolování a hodnoty pH

Těkavé analyty, které jsou schopné odpařování, mohou být extrahovány ponořením do vlákna vzorku nebo vzorkováním v prostoru parní fáze. Netěkavé analyty musí být extrahovány pouze ponořením vlákna. Přidáme-li 25-30 hmotnostních % chloridu sodného do vzorku, případně pokud upravíme pH vzorku před vlastní extrakcí, dojde ke zvýšení iontové síly roztoku, a tím také ke snižování rozpustnosti analytů. Zvýšení iontové síly roztoku způsobené přidáním soli do vzorků má za následek zvýšení účinnosti extrakce pro řadu analytů, zvláště látek polárních a těkavých. To platí i v případě stopové analýzy. Zvýšení iontové síly se však nedoporučuje pro vysokomolekulární látky, protože by mohlo docházet ke vzniku interferujících píků. Změna pH také ovlivňuje rozpustnost některých analytů. Kyselé a bazické složky jsou mnohem účinněji extrahovány v kyselém, případně bazickém prostředí. Vhodnou kombinací iontové síly a pH se zlepší extrakce analytu z prostoru parní fáze. Ustavení rovnováhy je rychlejší v prostoru parní fáze než při ponoření do vzorku proto, že se molekuly pohybují v plynné fázi mnohem rychleji než v kapalině [32].

2.9.2 Identifikace a kvantifikace analytů

Jako samotná analytická koncovka se pro tento typ látek hodí plynová chromatografie s hmotnostním detektorem. Hmotnostní detektor je výhodný pro detekci analytů, které jsou ve vzorku ve velmi malých koncentracích.

Tabulka 11.Přehled dostupných SPME vláken[31]

Stacionární fáze/tloušťka vrstvy	Zkratka názvu stacionární fáze a typ sorpce	Analytická koncovka	Doporučeno pro analýzu
Polydimethylsiloxan 100 µm	PDMS(absorpce)	GC/HPLC	Těkavé látky
Polydimethylsiloxan 30 µm	PDMS (absorpce)	GC/HPLC	Nepolární středně těkavé látky
Polydimethylsiloxan 7 µm	PDMS(absorpce)	GC/HPLC	Slabě polární až nepolární středně těkavé látky
Polydimethylsiloxan/divinylbenzen 65 µm	PDMS/DVB(adsorpce)	GC	Polární těkavé látky
Polydimethylsiloxan/divinylbenzen 60 µm	PDMS/DVB(adsorpce)	HPLC	Obecné užití (pouze pro HPLC)
Polyakrylát 85 µm	PA (absorpce)	GC/HPLC	Polární středně těkavé látky
Carboxen/polydimethylsiloxan 75 µm	CAR/PDMS (adsorpce)	GC	Stopové koncentrace těkavých látek
Carbowax/divinylbenzen 65 µm	CW/DVB (adsorpce)	GC	Polární látky
Carbowax/pryskyřice 50 µm látky	CW/TPR (adsorpce)	HPLC	Povrchově aktivní
Divinylbenzen/Carboxen/Polydimethylsiloxan 50 µm CAR / 30 µm PDMS	DVB/CAR/PDMS (adsorpce)	GC	Těkavé a středně těkavé látky C ₃ -C ₂₀

2.9.2.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie patří do skupiny chromatografických metod. Chromatografie je separační metoda založená na opakovaném vytváření rovnováh mezi dvěmi rozdílnými fázemi. Jedna fáze je nepohyblivá - stacionární, druhá fáze je pohyblivá - mobilní. Vzorek je aplikován na kolonu, tj. na počátek stacionární fáze. Mobilní fáze unáší tento vzorek přes stacionární fázi. Během pohybu se jednotlivé složky zachycují na stacionární fázi a tím se zadržují. Zadržují se tím více, čím pevněji jsou na stacionární fázi navázány. Na konec stacionární fáze se proto dostávají látky, které jsou vázány na stacionární fázi nejméně.

Rovnovážné stavy se vytvářejí na základě vzájemných fyzikálně chemických interakcí mezi analytem a stacionární fází. Jedná se o kombinaci následujících dějů: chemisorpce, srážení, adsorpce, tvorba komplexů nebo síťový efekt. Podle převažujícího mechanismu rozdělujeme chromatografii na adsorpční, rozdělovací, iontově výměnou, gelově permeační a afinitní.

Separované analyty jsou nakonec vnášeny do detektoru, který poskytuje signál odpovídající buď množství nebo koncentraci. Signál vzniká na základě fyzikálních nebo fyzikálně chemických vlastností analytu. Signálu reagujícímu na prošlé množství analytu se také říká odezva detektoru. Soubor signálů se na chromatogramu zobrazí jako píky. Píky jsou charakterizovány retenčním časem, což je údaj důležitý pro kvalitativní analýzu a velikost, případně výška nebo plocha píku je údaj potřebný pro kvantitativní analýzu [33, 34].

V plynové chromatografii je nezbytné přeměnit analyty ihned na plyn, aby se daly pomocí mobilní fáze transportovat. Mobilní fází je zde nosný plyn. Aby se analyty mohly separovat, musí být tepelně stálé, mít dostatečně velký tlak nasycených par a jejich relativní molekulová hmotnost musí být menší než 1000. Metoda se dá použít na separaci plynů, většiny nedisociovaných kapalin a pevných organických molekul a také na velký počet organokovových látek. Tato metoda není vhodná na separaci makromolekul, organických a anorganických solí. Některé analyty, které nelze přímo stanovit pomocí plynové chromatografie, můžeme převést tzv. derivatizací na těkavé látky, které již lze touto metodou stanovit. V plynové chromatografii se běžně používá eluční metoda. Vzorek je vnesen do přístroje jednorázově a analyty jsou poté z kolony vymývány, a to podle jejich afinity ke stacionární fázi a k mobilní fázi, tj. nosnému plynu. Nosný plyn neinteraguje se separovanými složkami a stacionární fází.

Přístroj pro plynovou chromatografii se skládá z několika základních částí, a to ze zdroje nosného plynu, čistícího zařízení, regulačního zařízení, nástřikového bloku (injektoru), chromatografické kolony umístěné v termostatu, detektoru a vyhodnocovacího zařízení [33, 34].

Nosný plyn

Mobilní fází je v plynové chromatografii inertní plyn, kterými jsou helium, argon, dusík, oxid uhličitý a vodík. Hlavním kritériem výběru nosného plynu jsou požadavky měřicího systému. Kritériem pro optimální výběr nosného plynu je potlačení difuzních dějů, což je jeden z bazálních požadavků pro dobrou separaci. Správná funkce měřicího systému má být nastavena tak, abychom dosáhli co nejvyšší citlivosti měření.

Hlavním problémem nosných plynů v plynové chromatografii je přítomnost nečistot obsažených v těchto plynech. Nečistoty interagují s analytem nebo se stacionární fází. Nejhoršími nečistotami jsou vodní pára a kyslík, a to jak pro separační systém, tak i pro měřicí systém. Změna separačního systému se projevuje změnou stacionární fáze, tzv. stárnutím, které má za následek omezenou přesnost výsledků. Proto je zapotřebí zařadit do systému čistící zařízení, které z nosného plynu vychytává výše zmíněné nečistoty [33, 34].

Systém regulátorů

V plynové chromatografii se uplatňuje několik regulačních zařízení. Obvykle máme k dispozici regulátory konstantního průtoku a regulátory konstantního vstupního tlaku. Jedná se o elektronická zařízení mající na starosti průtok plynu, držení konstantního tlaku a konstantního hmotnostního toku kolonou. Podle vybrané veličiny, kterou chceme udržovat konstantní, se ostatní veličiny stávají proměnnými a přístroj si je sám nastavuje podle potřeby [33, 34]

Injektor

Injektor umožňuje vstup analytů do přístroje a slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Technika dávkování musí zajistit rychlé odpaření vzorku. Roztoky se dávkují injekčními stříkačkami o objemu 0,1-10 μl . Jsou známy různé metody nástřiku do kolony.

Nástřik do kolony (*on column*)

Tento nástřik je základní metodou u náplňových kolon, kde se nástřikuje 1 až 10 μl vzorku. Tento nástřik je preferován i pro kapilární kolony o větší světlosti (od průměru 0,25 mm), s použitím jehly dávkovače pro objemy 0,2-2 μl vzorku. Horní část kolony je zahřívána na teplotu nižší o 10-30 $^{\circ}\text{C}$, než je teplota varu příslušného rozpouštědla, ve kterém je přítomen sledovaný analyt. Vzorek musí být rychle nadávkován a vytvořit kapalnou film na stěně kolony. Po 30-60 sekundách se teplota kolony prudce zvýší, aby mohlo dojít k odpaření. [33]

Nástřik pomocí děliče toku (*split injection*)

Kolony s menším průměrem mají menší kapacitu. Proto je nutné se u koncentrovaných vzorků zbavit části vzorku. Děje se tak prostřednictvím nosného plynu, který přesně definovanou část odnese pryč mimo kolonu. Do samotné kolony se dostává jen 0-10 % původního nástřiku vzorku.

Nástřik bez děliče toku (*splitless injection*)

Tento nástřik se používá pro stopové analýzy, u kterých je zapotřebí větší objem vzorku, a to 0,5-5 μl . Princip je podobný jako u nástřiku s děličem toku, pouze je odváděcí smyčka uzavřená. Proto je celý nástřik vzorku převeden na kolonu [33].

Termostat

Termostat má za úkol zajistit dostatečnou teplotu dávkovače, kolony a detektoru. Teplota je důležitá, aby se vzorek udržel v plynném stavu. Konstantní teplota na koloně se dá použít pouze tehdy, pokud mají analyty podobnou teplotu varu. Pro vzorky s látkami, které mají různé teploty varu, se dá programově nastavit změna teploty, tzn., že volíme teplotní program. Převážně pracujeme v teplotním rozmezí 50-300 $^{\circ}\text{C}$ [33].

Kolona

K dispozici jsou dva typy kolon, náplňové a kapilární kolony.

Náplňové kolony

Trubice jsou naplněné sorbenty nebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Obvykle jsou vyrobeny ze skla nebo ocele. Délka těchto kolon je 1-5 m, vnitřní průměr je 2-6 mm. Pro adsorpční chromatografii se používají například tyto adsorbenty: silikagel, grafitizované saze a alumina. Nosiče kapalnou fází pro rozdělovací chromatografii bývají na bázi křemeliny.

Kapilární kolony

Jsou vyráběné z taveného křemene. Potáhnuté jsou polyimidovým povlakem, který je chrání a propůjčuje jim pružnost a zaručuje jejich stabilitu do 350 $^{\circ}\text{C}$. Na vnitřní straně kolony je nanesena stacionární fáze. Délka kolony je do 60 m a vnitřní průměr je 0,1-0,6 mm. Podle typu vnitřní stacionární fáze rozlišujeme kolony WCOT (*Wall Coated Open Tubular*) s kapalnou stacionární fází a kolony SCOT (*Support Coated Open Tubular*) s kapalnou stacionární fází zakotvenou na povrchu pevného nosiče na vnitřní straně kapiláry. Posledním typem je kolona PLOT (*Porous Layer Open Tubular*) s vrstvou pevného aktivního sorbetu na vnitřním povrchu kapiláry [33,34].

Detektor

V okamžiku, kdy projde nosný plyn spolu s analytem do detektoru, začne detektor reagovat na přítomnost analytu a vysílá signál. Signál je zaznamenáván v závislosti na čase. Detektor sleduje takovou vlastnost plynu vycházejícího z kolony, která závisí na typu a na koncentraci složek (analytická vlastnost). Detektor musí mít dostatečnou citlivost, tj. nízký detekční limit a jeho odezva by měla být lineární funkcí obsahu analytu. Důležitým požadavkem je vysoká selektivita pro stanovované analyty.

Nejpoužívanějšími detektory jsou teplotně-vodivostní detektor (TCD), plamenný ionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD) a hmotnostní spektrometr (MS).

Detektory se dělí na destruktivní a nedestruktivní. U destruktivních detektorů dochází k nevratným změnám analytu.

Nedestruktivní detektory	– TCD, ECD, IRS – infračervený spektrometr.
Destruktivní detektory	– FID, AFID – plamenový termoionizační detektor, MS detektor [33, 34].

Zpracování signálu

Ke zpracování výsledků analýz se používá příslušný software, který je součástí přístrojového vybavení.

2.9.3 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je velice účinná technika, která se používá pro identifikaci neznámých sloučenin, pro jejich kvantifikaci a pro určení struktury a chemických vlastností molekul.

Jedná se o analytickou metodu založenou na studiu interakce molekuly nebo atomu s elektromagnetickým zářením. Po převedení do plynné fáze tak vznikají ionty, které jsou dále separovány podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje, m/z .

Výstupem hmotnostní spektrometrie je záznam, tzv. hmotnostní spektrum, který znázorňuje závislost intenzity signálu na m/z . Hmotnostní spektrum není základní fyzikální vlastností sloučeniny, ale vždy záleží na prostředí, ve kterém vzniká. Získáme z něj informace jak o molekulové hmotnosti sloučeniny, popř. izotopickém složení, tak díky fragmentaci molekuly při ionizaci nakonec i informace o její struktuře. Hmotnostní spektrometrie patří mezi destruktivní metody.

Hmotnostní spektrometr je přístroj, který umožňuje měřit hmotnostní spektra analyzovaných atomů nebo molekul. Často se používá ve spojení s další technikou, nejvíce pak s plynovou nebo kapalinovou chromatografií. Existuje celá řada různých typů hmotnostních spektrometrů lišících se svými součástmi podle účelu, ke kterému mají být používány. U všech je nutné udržovat vysoké vakuum, v rozmezí 10^{-4} až 10^{-8} Pa. Vakuum zaručuje dostatečně dlouhou střední dráhu letu jednotlivých molekul a minimum nežádoucích sekundárních chemických reakcí. K jeho dosažení se používá dvoustupňový systém rotační (hrubé vakuum) a difuzní pumpy (hluboké vakuum).

Dále se každý přístroj skládá ze tří základních částí:

- Iontový zdroj
- Hmotnostní analyzátor
- Detektor.

Iontový zdroj

V iontovém zdroji dochází ke generování iontů ze sledovaných atomů nebo molekul. K dispozici je několik možných způsobů, jak toho lze dosáhnout. Každý ze zdrojů má své specifické vlastnosti a jejich použití je závislé na typu sledovaného analytu. Nejstarší a nejčastěji používanou ionizační technikou je elektronová ionizace. V závislosti na energii interagujících elektronů může dojít k řadě procesů (k excitaci molekuly, fragmentaci a ke vzniku záporných a kladných iontů). Z hlediska hmotnostní spektrometrie je nejdůležitější oblastí vznik negativních iontů (velmi nízké energie) a pozitivních iontů. Ve většině případů se ve spojení s elektronovou ionizací uvažuje o detekci vzniklých pozitivně radikál-kationtů nebo kationtů. K odtržení elektronu z molekuly a ke vzniku kationtu dojde v okamžiku, kdy je energie bombardujících elektronů rovna nebo vyšší, než je ionizační potenciál vazby. Hmotnostní spektrometrii můžeme proto zařadit mezi metody, kterými jsou měřeny ionizační potenciály. Protože pro většinu anorganických a organických molekul dosahuje pravděpodobnost ionizace maximální hodnoty kolem energie elektronů 70 eV, mají vzniklé ionty značný přebytek energie a jen některé z nich jsou stabilní dostatečně dlouhou dobu. Následnými pochody dochází k fragmentaci, tzn. rozštěpení molekuly na nabitě a nenabitě části a k přesmykům, což v podstatě znamená přeskládání struktury fragmentovaných částí. Kromě ion-radikálů jsou po ionizaci přítomny také kationty, radikály a neutrální molekuly. Energie 70 eV zajišťuje rovněž konstantní stupeň fragmentace a získání tabelovaného spektra. Tento způsob ionizace je také nazývaný *elektron impact (EI)*. Patří mezi tvrdé ionizační techniky.

Pokud nechceme nebo nepotřebujeme takový stupeň fragmentace, kterou poskytuje EI, je vhodné použít jinou ionizační metodu, například chemickou ionizaci (CI), ionizaci elektrickým polem (FI), ionizaci laserem za účasti matrice (MALDI), termosprej (TSI) a elektrosprej (ESI) [1, 33,35].

Hmotnostní analyzátor

Slouží k separaci iontů podle daných kritérií poměru m/z . Využívá se různých fyzikálních mechanismů, například doba letu částic a směr letu nabitých částic v proměnlivém elektromagnetickém poli.

Kvadrupólový analyzátor

Patří mezi nejběžnější analyzátory a separátory. Obsahuje čtyři tyče, na které je přiváděna stejnosměrná složka napětí a zároveň složka radiofrekvenčního pole. Nastavení těchto hodnot určuje, jaký tvar bude mít trajektorie částic putující touto oblastí. Pouze částice s vhodným m/z projdou touto částí zařízení a dopadnou na detektor. Částice příliš „lehké“ uletí do prostoru mimo kvadrupól, příliš „těžké“ částice zase dopadnou na povrch tyčí. Během analýzy se nastavení veličin mění a dovoluje tak měřit různé m/z [33, 35].

Kvadrupólová iontová past

Tento analyzátor pracuje na podobném principu jako kvadrupól. Rozdíl je v tom, že obsahuje tři části, jednu kruhovou elektrodu a dvě elektrody vyklenuté do prostoru. V iontové pasti se zadržují ionty, které potom všechny společně odchází do prostoru ve formě iontového oblaku.

Další příklady analyzátorů jsou: analyzátor magnetický, elektrostatický, průletový (TOF), iontová past (IT), analyzátor s dvojitou fokusací (HRMS) a iontová cyklotronová rezonance (ICR) [33, 35].

Detektor

Elektronový násobič pracuje na principu sekundární emise elektronů za neustálého zesilování primárního signálu. Lze jím dosáhnout 10^3 až 10^8 násobné zesílení proudu s malým podílem šumu. Tento detektor musí být odstíněn od magnetického pole a musí být udržován neustále ve vakuu. K jeho výhodám patří rychlost odezvy, nevýhodou je naopak hmotnostní diskriminace.

Dalším typem detektoru je detektor s konverzní dynodou a fotonásobičem. Náraz iontu na konverzní elektrodu mění tento iont za elektron. Ten dopadá na fosforescenční stínítko a vyrazí foton. Foton je zachycen fotonásobičem [33].

Spojení GC a MS

Při spojení GC a MS slouží hmotnostní spektrometr jako detektor. Přímé spojení GC, ve kterém je použita náplňová kolona a MS neexistuje. Důvodem je velké množství nosného plynu, který by v MS porušoval vakuum. U kapilární GC je možné zavést kapiláru přímo do iontového zdroje, protože průtok plynu je podstatně menší. Spojení GC a MS je důležité při analýze neznámých složek vzorků[36].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Používané přístroje, zařízení a software

Přístroje a zařízení

- Míchačka RCT basic (Kika Werke, Německo)

Mikroextrakce tuhou fází

- držák pro SPME
- SPME vlákno (modré): 65 μm PDMS-DVB (Supelco, USA)

Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem

- GC Hewlett-Packard 6890N (Agilent, USA)
- *Kolona*: kapilární, stacionární fáze: DB-5MS; rozměry: 20 m \times 0,180 mm \times 0,18 μm ; limit teplot: -60 °C-325 °C (Agilent Technologies, USA, katalogové číslo: 121-5522)
- Hmotnostní detektor MSD 5973N (Agilent, USA) [elektronová ionizace, kvadrupól]

Software

- Enhanced ChemStation G1701DA Version D.00.00.38 (19. 11. 2001) [MSD 5973N + Offline-MSD Data Analysis] (Agilent Technologies, USA)

3.2 Chemikálie a standardy

Technické plyny

- Helium 6,0 (Messer, ČR) [pro GC]

Standardy

- Tonalid [10 ng/ μl v cyklohexanu] (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo)
- Musk keton [10 ng/ μl v cyklohexanu] (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo)
- Galaxolid [1 mg/ml v isooktanu] (95 %) (Aroma, Roudnice nad Labem, ČR)
- Musk Ambrette [10 ng/ μl v cyklohexanu] (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo)

Rozpouštědla

- Aceton (Merk, Německo)

Ostatní

- Kyselina chromsírová [vyrobena v laboratořích VFU z kyseliny sírové (Merck, Německo) a 10% roztoku dichromanu draselného (Merck, Německo)]
- Destilovaná voda

3.3 Pracovní postupy

3.3.1 Čistící postupy

Sklo

K umývání skla je nutný speciální postup, který zajistí, že nedojde ke kontaminaci vonnými látkami obsaženými v běžných detergentech. Čistící postup je následující:

- 2x voda
- 2x destilovaná voda, sklo se musí nechat uschnout
- sklo se naplní chromsírovou kyselinou a takto naplněno se ponechá 24 h
- 2x voda
- 2x destilovaná voda
- 2x redestilovaná voda
- Sklo se vloží do sušárny zahřáté na teplotu 250 °C, po dobu 2 h

3.3.2 Příprava pracovních a kalibračních roztoků

Směsný pracovní roztok I (PR1)

Koncentrace složek:

HHCB – 80 ng/ml

AHTN – 80 ng/ml

AMB – 100 ng/ml

MK – 100 ng/ml.

Směsný pracovní roztok II (PR2)

Koncentrace složek:

HHCB – 70 ng/ml

AHTN – 70 ng/ml

AMB – 100 ng/ml

MK – 100 ng/ml.

Směsný pracovní roztok III (PR3) – na použití v reálném vzorku

Koncentrace složek:

HHCB – 840 ng/ml

AHTN – 100 ng/ml.

Směsný pracovní roztok IV (PR4) – na použití v reálném vzorku

Koncentrace složek:

AMB – 100 ng/ml

MK – 100 ng/ml.

3.4 Zjištění retenčních charakteristik a hmotnostních spekter analytů pomocí GC/MS

Pro vlastní analýzu bylo zvoleno nastavení metody SPME uvedené v kapitole 3.6.1. K analýze byly použity samostatné standardy, koncentrace ve vialce byla 1 ng/ml u AHTN, MK, AMB. Koncentrace HHCB byla 0,001 ng/ml.

Základní nastavení metody v GC/MS:

Čas desorpce	– 7 minut
Průtok nosného plynu	– 0,8 ml/min
Lineární rychlost nosného plynu	– 36 cm/sec
Injektor	– Splitless
Teplota injektoru	– 250 °C
Průtok nosného plynu v injektoru po nástřiku	– 15 ml/min
Teplota detektoru	– 230 °C
Teplota transferline	– 250 °C
Nastavení	– Konstatní průtok
Základní teplotní rampa	

Tabulka 12.. Základní teplotní rampa 1

Rampa °C/min	Teplota /°C		Drženo /min
	počáteční	konečná	
–	50	50	3
15	50	280	–
–	280	280	2

Identifikace analytů je prováděna pomocí retenčních časů. Retenční časy byly získány analýzou samotného standardu o vysoké koncentraci v modu SCAN. Standardy AHTN, AMB a MK byly v koncentraci 1 ng/ml, standard HHCB v koncentraci 0,001 ng/ml. Výsledky a hmotnostní spektra jsou prezentovány v kapitole 4.1. Z hmotnostních spekter byly vybrány kvantifikační ionty pro každou stanovovanou musk sloučeninu.

3.5 Optimalizace metody GC/MS – teplotní rampa

Teplotní rampa nám zajišťuje optimální separaci analytů v chromatogramu. Správné nastavení teplotního programu zaručuje rozdělení stanovovaných analytů přítomných ve vzorku a jejich správnou identifikaci a kvantifikaci. Nastavení metody SPME viz. kapitola níže. Výsledky jsou uvedeny v kapitole 4.2.1.

3.6 Optimalizace SPME

3.6.1 Základní nastavení metody SPME

Vlákno	– PDMS/DVB 65 µm
Provedení	– headspace
Objem vialky	– 22 ml
Objem vzorku	– 10 ml
Teplota	– 80 °C
Doba ustálení rovnováhy	– 5 min
Doba expozice vlákna	– 20 min
Rychlost míchání	– 900 ot/min
Dávka roztoku	– 200 µl
Koncentrace	
HHCB	– 1,6 ng/ml
AHTN	– 1,6 ng/ml
AMB	– 2,0 ng/ml
MK	– 2,0 ng/ml

Toto nastavení bylo převzato z předchozích prací věnovaných stanovení syntetických musk sloučenin v odpadních vodách [1].

Po dokončení optimalizace se podmínky změnilly viz kapitola 4.3.4.

3.6.2 Typ vláken a provedení

Typ vlákna je důležitý parametr, který významně ovlivňuje stanovení vybraného analytu. Proto v rámci optimalizace byly vyzkoušeny různé typy vláken s vybranou nejvhodnější teplotní rampou. K dispozici byla čtyři vlákna.

Modré	– 65 µm Polydimethylsiloxane-Divinylbenzene (PDMS/DVB)
Zelené	– 7 µm Polydimethylsiloxane (PDMS)
Bílé	– 85 µm Polyacrylate (PAC)
Červené	– 100 µm Polydimethylsiloxane (PDMS).

U každého vlákna byla porovnávána metoda provedení sorpce – headspace a ponoření. Teplotní rampa byla vybrána podle výsledků z kapitoly 4.2. Zbylé parametry jsou uvedeny v kapitole 3.6.1. Výsledky optimalizace jsou prezentovány v kapitole 4.3.1.

3.6.3 Čas sorpce

Je to čas nutný k vytvoření rovnováhy mezi extrakční vrstvou a analytem ve vzorku. K sorpci bylo vybráno optimální vlákno s metodou provedené – ponoření. Testovaná časová řada byla 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60 minut. Zbylé parametry viz. kapitola 3.6.1 Výsledky jsou uvedeny v kapitole 4.3.2.

3.6.4 Teplota sorpce

Teplota sorpce významně ovlivňuje schopnost syntetických musk sloučenin sorbovat se na použité vlákno. Testované teploty byly 40 °C, 50 °C, 60 °C, 65 °C, 80 °C, 95 °C, sorpce byla provedena na optimálním vlákně metodou přímého ponoření. Výsledky a grafy jsou diskutovány v kapitole 4.3.3. Zbylé parametry SPME jsou uvedeny v kapitole 3.6.1.

3.7 Vzorkování

Vzorky byly odebrány do tmavých skleněných lahví o objemu 0,5 l, které byly umyty speciálním postupem uvedeném. kapitole 3.3.1. Při odběru byly lahve naplněny po okraj a pevně uzavřeny víčkem. Potom byly převezeny do laboratoře hmotnostní spektrometrie na Veterinární a farmaceutické univerzitě Brno. Pokud to bylo nutné, uchovávaly se vzorky v lednici při 4 °C, ne však déle než 12 hodin. Odpadní průmyslová voda se odebírala z čistírny odpadních vod v areálu firmy Dermacol. Čistírna odpadních vod se skládá ze dvou zásobních tanků a ultrafiltrační jednotky.

3.7.1 Specifikace a zpracování vzorků

Vzorky odpadní vody z kosmetické firmy

Původ: Dermacol a.s.

Datum odběru: 19.-23.4. 2010 a 26.-30. 4. 2010

Tabulka 13. Specifikace vzorků

Datum odběru	Vzorek před ultrafiltrací	Vzorek po ultrafiltraci	Počet vzorků
19.-23.4. 2010	Ano	Ano	10
26.-30. 4. 2010	Ano	Ano	10

Odpadní voda odebraná před ultrafiltrací byla na místě filtrována a následně byly oba vzorky transportovány do laboratoře, kde byly podrobeny analýze.

3.8 Proměření reálných vzorků

Byly použity vialky o objemu 22 ml a dávkováno bylo 14 ml vzorku. Vzorky odebrané po ultrafiltraci se měřily neředěné. Vzorky před ultrafiltrací byly měřeny ředěné v poměru 1:5 (pro stanovení AMB a MK) a 1:10 (pro stanovení HHCB a AHTN). Každý vzorek byl proměřen 3x. Nastavení parametrů SPME je uvedeno v kapitole 4.3.4. a zbylé parametry v kapitole 3.6.1.

Blank byl vytvořen z destilované vody o objemu 14 ml, která byla umístěna do vialky o objemu 22 ml. Blanky byly průběžně měřeny každý den. Ze všech blanků byl nakonec vypočítán průměrný blank. Výsledky jsou uvedené v kapitole 4.4.

3.8.1 Kvantifikace analytů pomocí GC/MS

Při použití GC s hmotnostní detekcí (elektronová ionizace, kvadrupólový analyzátor) je nutné pracovat v režimu SIM, který disponuje až o dva řády nižší mezí detekce než režim SCAN. Důvodem jsou stopové koncentrace analytů hodnocené v analyzovaných vzorcích. Identifikace analytů je prováděna pomocí retenčních časů. Při vyhodnocování získaného chromatogramu extrahujeme danou hodnotu m/z a ručně integrujeme pík; tak získáme jeho plochu. Kvantifikace analytu je založena na metodě standardního přídávku.

Metoda standardního přídávku

Pokud použijeme tuto metodu, nejprve měříme reálné vzorky a teprve potom jsou změřeny vzorky se známým přídatkem standardu. Přídatek se dává tak, aby předpokládané navýšení odezvy bylo v rozmezí 25 %-50 %.

Výsledná koncentrace analytu ve vzorku se pak vypočítá podle vzorce:

$$c_x = \frac{A \cdot c_s \cdot V_p}{A_p \cdot (V_{VZ} + V_p) - (A \cdot V_{VZ})}, \text{ kde}$$

- c_x – neznámá koncentrace analytu ve vzorku (ng/ml)
 A – velikost signálu ve vzorku bez přídatku standardu
 c_s – koncentrace přidávaného standardu (ng/ml)
 V_p – objem přidávaného standardu (ml)
 A_p – velikost signálu ve vzorku s přídatkem standardu
 V_{VZ} – objem vzorku ve vialce (ml).

3.8.2 Určení LOD a LOQ

Celá metoda je založena na vytvoření kalibračních rovnic pro každý analyt. Do získaných rovnic se dosazují hodnoty odpovídající hodnotám průměrného blanku odpovídající konkrétnímu analytu. Získaná hodnota je poté považována za limit detekce – LOD. Hodnota LOQ potom představuje 10/3 LOD. Blanky se měřily po celou dobu samotné analýzy reálných vzorků a nakonec z nich byl vypočten průměrný blank.

Do jednotlivých vialek o objemu 22 ml byl odpipetován přídatek pracovního roztoku PR1 a vialka se vždy doplnila na objem 14 ml destilovanou vodou. Přídatky byly 5 µl, 20 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl. Koncentrace stanovovaných analytů ve vialkách jsou uvedeny v tabulce 14. Rozsah koncentrací byl zvolen s ohledem na velikost odezvy v reálných vzorcích. Zbytek parametrů je uveden v kapitole 3.6.1. Výsledné křivky jsou prezentovány v kapitole 4.5.

Tabulka 14. Příprava kalibrační řady pro HHCB, AHTN, AMB a MK, koncentrace v jednotlivých vialkách

Standard	Koncentrace ng/ml				
	Přídatek				
	5 µl	20 µl	50 µl	100 µl	200 µl
HHCB	0,30	1,20	3,00	6,00	12,00
AHTN	0,03	0,10	0,25	0,50	1,00
AMB	0,04	0,14	0,37	0,71	1,43
MK	0,04	0,14	0,37	0,71	1,43

3.8.3 Opakovatelnost

Vybraný přítokový vzorek (29. 4. 2010) o objemu 14 ml byl proměřen 5x a byla vypočtena jeho opakovatelnost jako RSD.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Zjištění retenčních charakteristik a hmotnostních spekter analytů pomocí GC/MS

Analýza byla provedena s každým standardem analyt samostatně. Pro každý analyt bylo získáno hmotnostní spektrum, z něhož byl odečten kvantifikační iont a ověřovací iont. Kromě toho se pro každý analyt zvlášť stanovily retenční časy. Postup provedení včetně použité metody je uveden v kapitole 3.4.

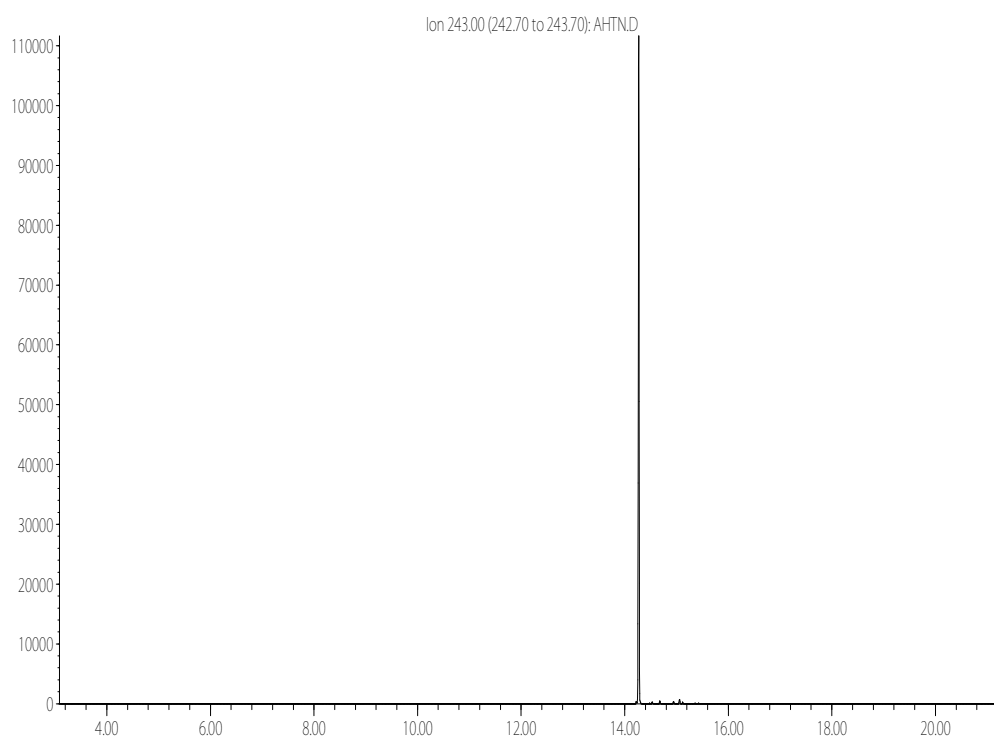
Tabulka 15. Retenční charakteristiky analytů

Analyt	Kvantifikační iont / identifikační iont	Retenční čas /min
HHCB	243/258	14,20
AHTN	243/258	14,27
AMB	253/268	14,05
MK	279/294	15,05

Protože HHCB a AHTN mají stejné kvantifikační a ověřovací ionty, jak vyplývá z tabulky 15, musí dojít k jejich úplnému rozdělení v chromatogramu. Se základní teplotní rampou k tomuto nedošlo, což by znemožnilo správnou kvantifikaci. U AMB a MK došlo k rozdělení již v základním teplotním programu.

Nastavení GC/MS bylo v modu SCAN, který poskytuje informace o celém hmotnostním spektru zkoumané látky, avšak má nižší rozlišovací schopnost (o 2 řády) než mod SIM. Proto je nutné použít vyšší koncentrace zkoumané látky. V modu SIM přístroj hmotnostní spektrometr separuje a detekuje jen vybrané ionty. K identifikaci stanovovaného analytu slouží hmotnostní spektrum získané v modu SCAN, které se porovnává s databází hmotnostních spekter. Výsledné chromatogramy jsou uvedeny na obrázcích 11, 13, 15, 17 a příslušná hmotnostní spektra potom na obrázcích 12, 14, 16, 18.

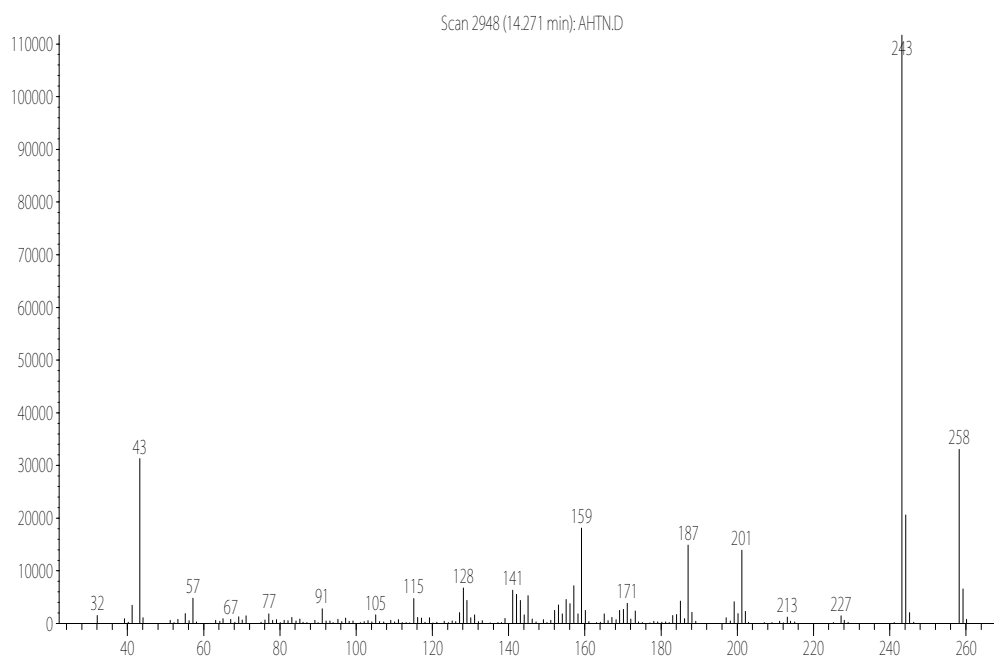
Abundance



Time-->

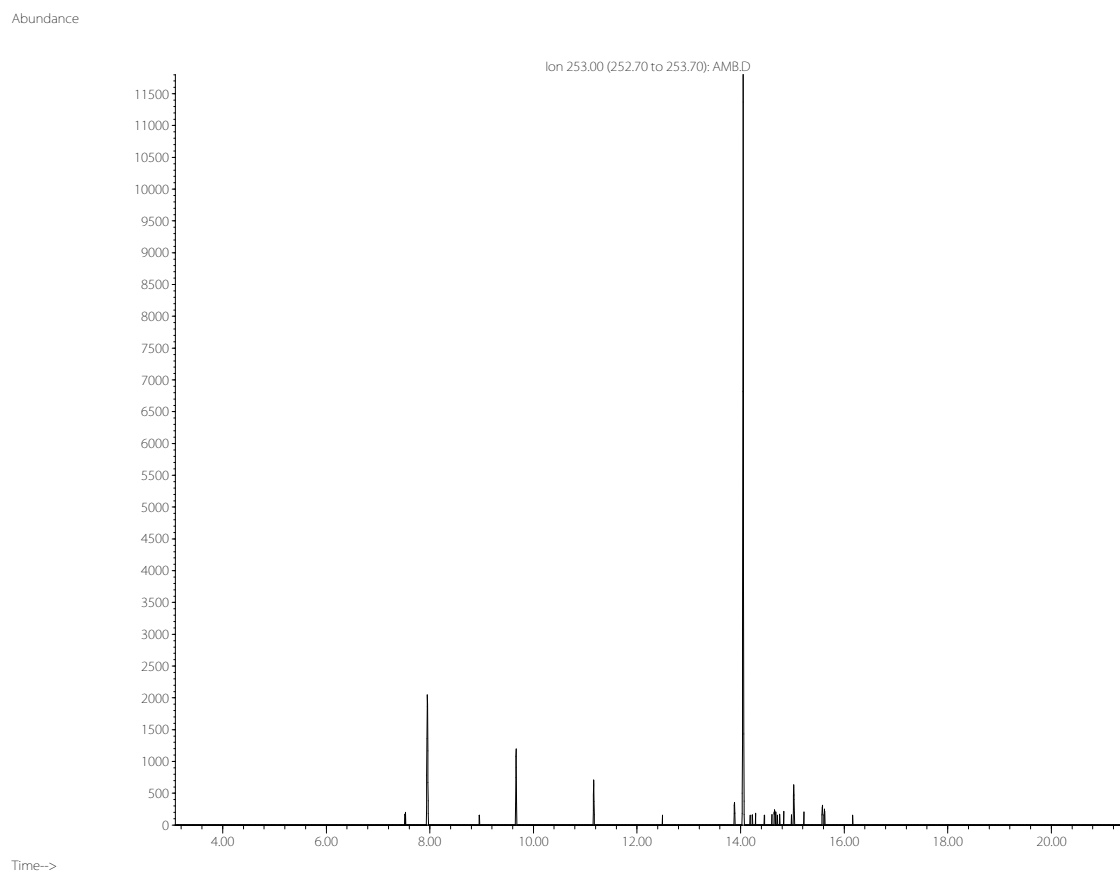
Obrázek 11. Chromatogram s AHTN v modu SCAN

Abundance

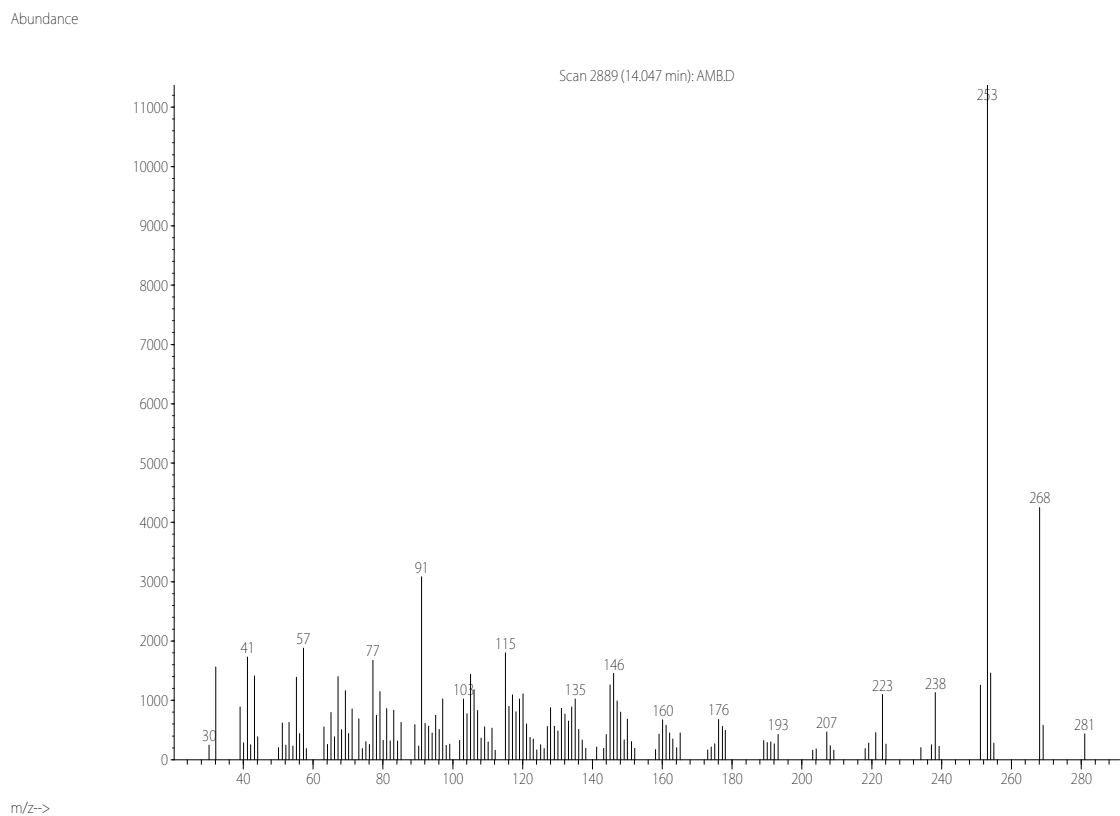


m/z-->

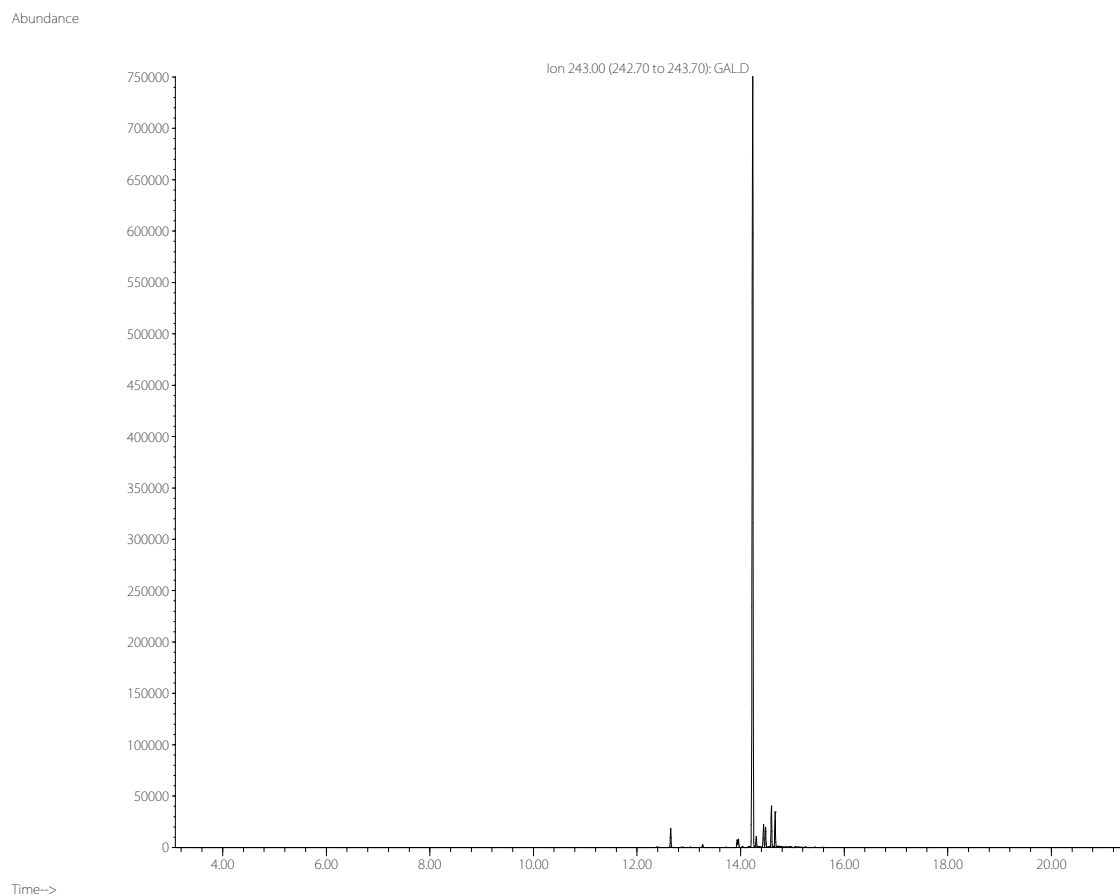
Obrázek 12. Hmotnostní spektrum AHTN



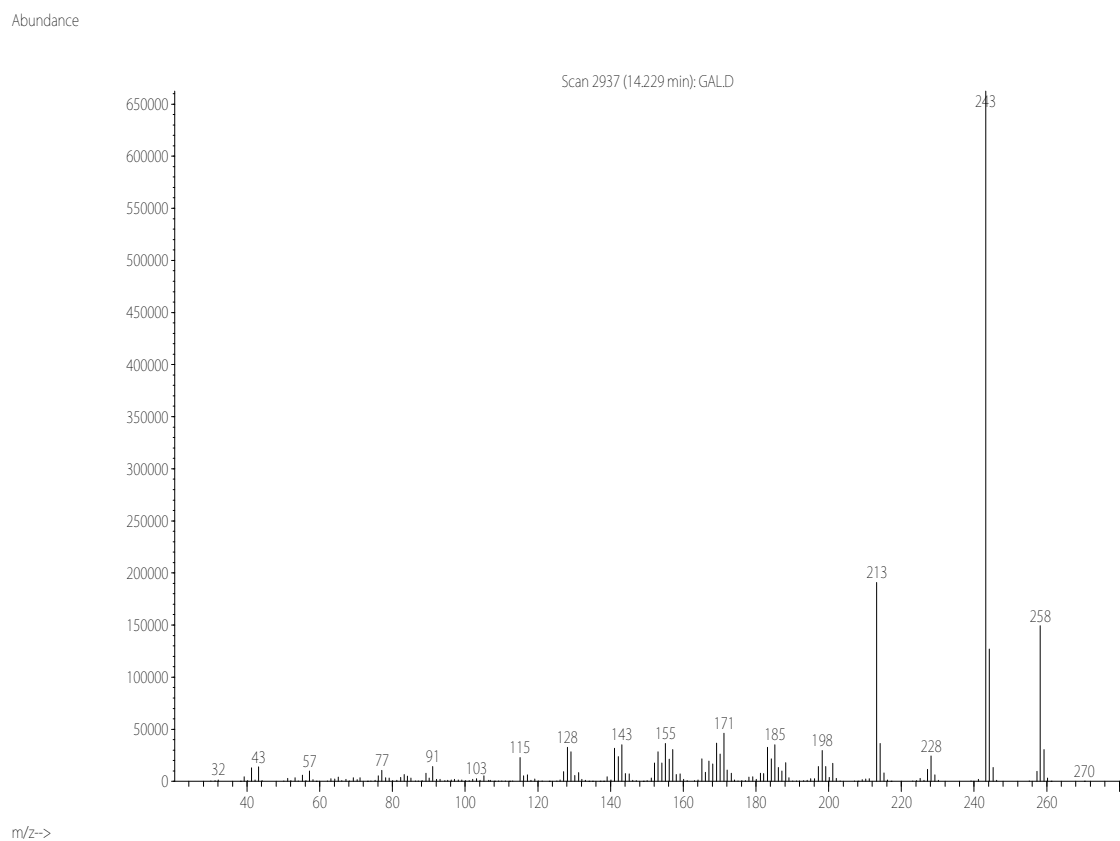
Obrázek 13. Chromatogram s AMB v modu SCAN



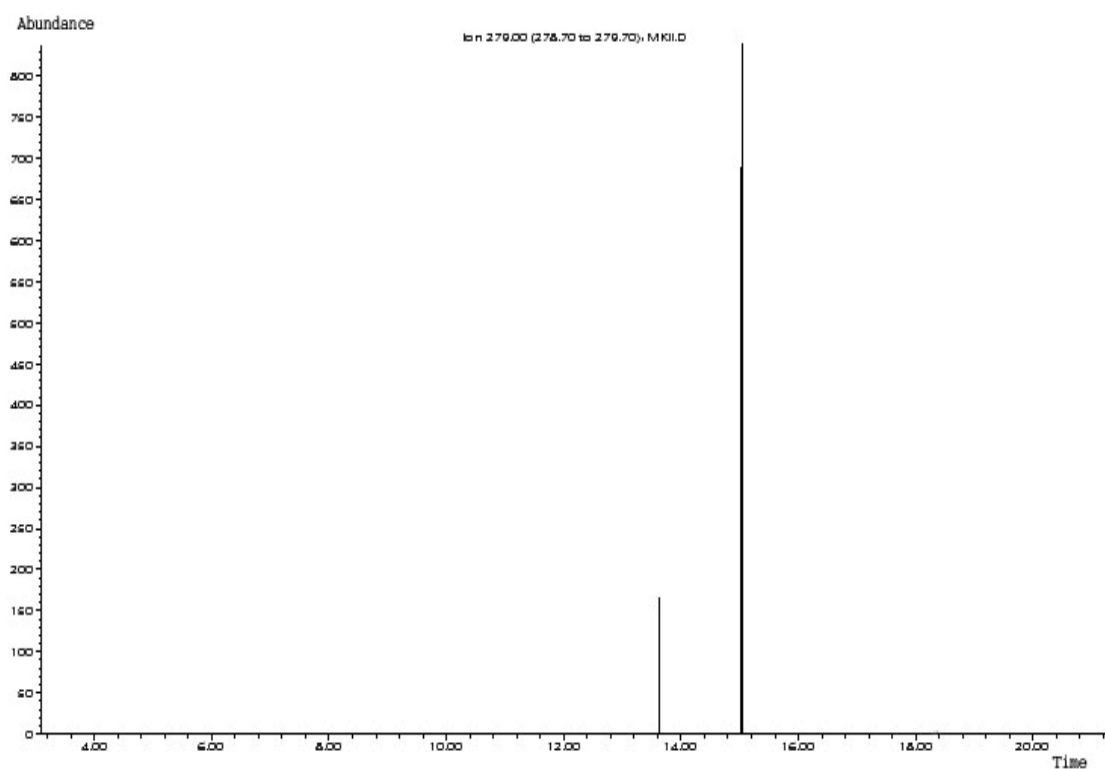
Obrázek 14. Hmotnostní spektrum AMB



Obrázek 15. Chromatogram s HHCB v modu SCAN

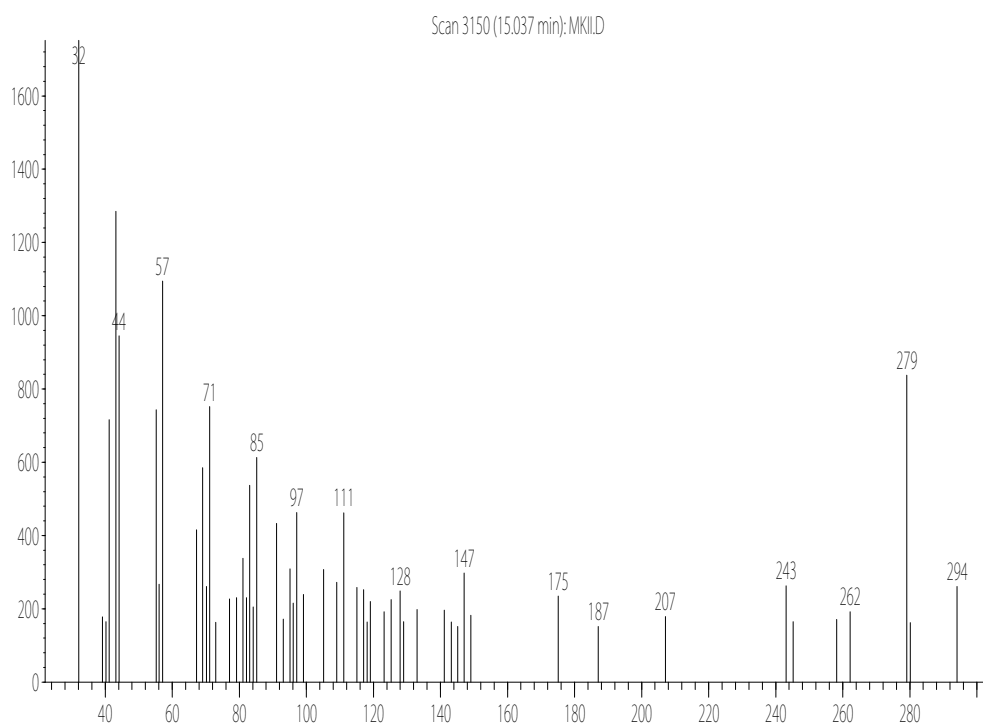


Obrázek 16. Hmotnostní spektrum HHCB



Obrázek 17. Chromatogram s MK v modu SCAN

Abundance



m/z->

Obrázek 18. Hmotnostní spektrum MK

4.2 Optimalizace metody GC/MS – teplotní rampa

Bylo použito základní nastavení GC/MS, optimalizovala se pouze teplota, která má největší vliv na umístění a tvar píků v chromatogramu. Vytvoření správné teplotní rampy zaručuje úplnou separaci stanovovaných analytů. V tomto případě je nutné rozdělit HHCB a AHTN. Další komplikace u těchto dvou analytů spočívá i ve stejném kvantifikačním a identifikačním iontu.

Kromě základní teplotní rampy byly vytvořeny další tři.

Tabulka 16. Teplotní rampa 2

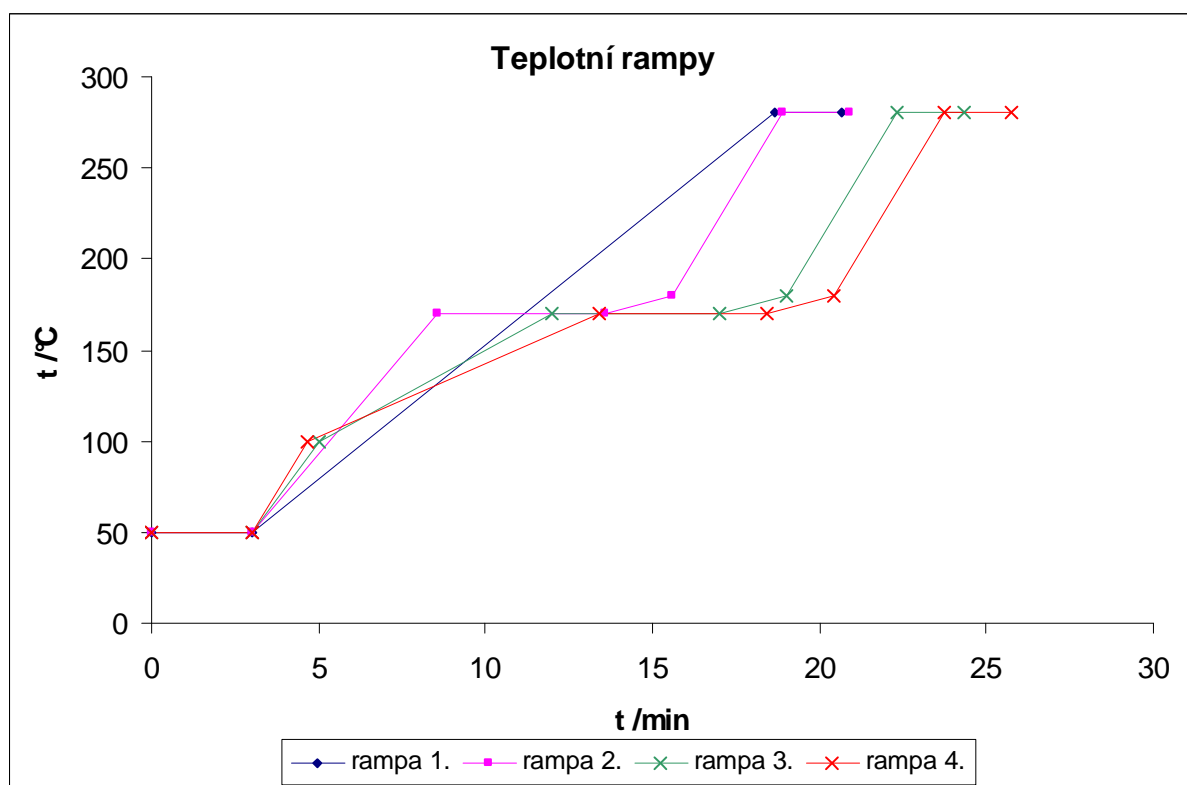
Rampa °C/min	Teplota /°C		Drženo /min
	počáteční	konečná	
–	50	50	3
14	50	170	–
–	170	170	5
5	170	180	–
30	180	280	–
–	280	280	2

Tabulka 17. Teplotní rampa 3

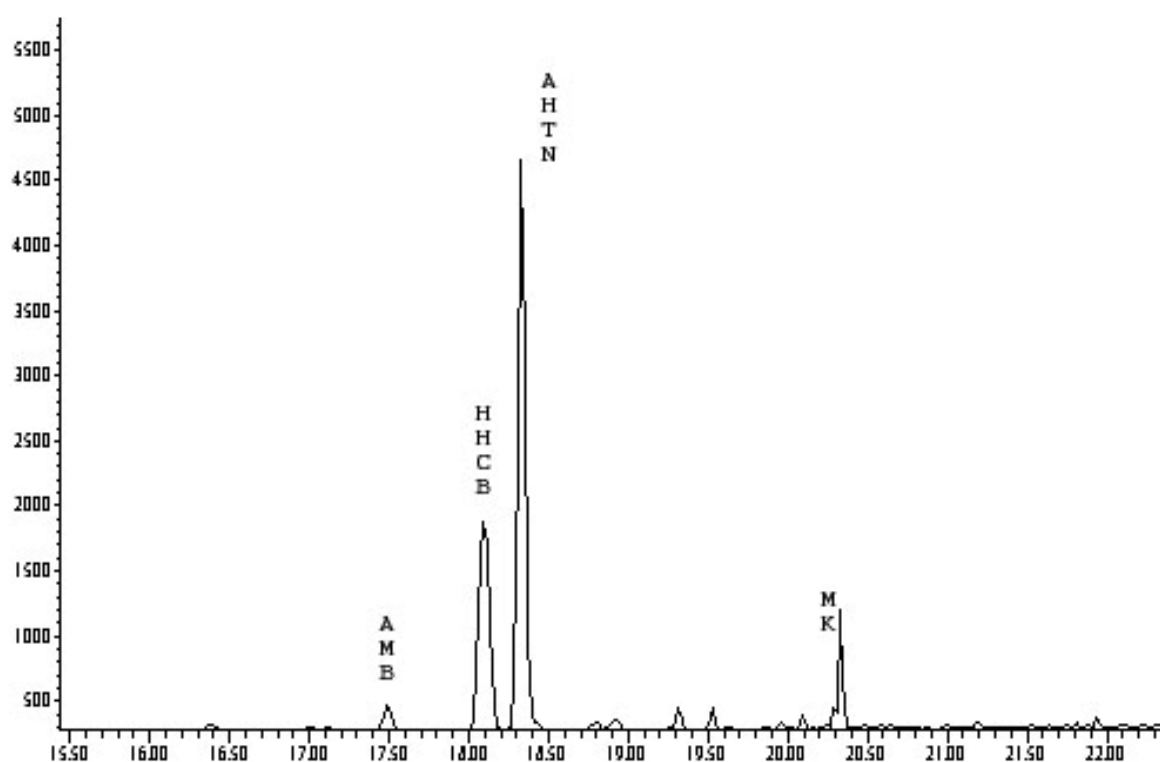
Rampa °C/min	Teplota /°C		Drženo /min
	počáteční	konečná	
–	50	50	3
25	50	100	–
10	100	170	–
–	170	170	5
5	170	180	–
30	180	280	–
–	280	280	2

Tabulka 18. Teplotní rampa 4

Rampa °C/min	Teplota /°C		Drženo /min
	počáteční	konečná	
–	50	50	3
30	50	100	–
8	100	170	–
–	170	170	5
5	170	180	–
30	180	280	–
–	280	280	2



Obrázek 19. Teplotní rampy



Obrázek 20. Analýza standardů při použití teplotní rampy 3

Jako optimální teplotní rampa byla zvolena teplotní rampa 3. Rozdělení HHCB a AHTN je dostatečné a umožňuje úplnou kvantifikaci analytů. Výsledné retenční časy jsou prezentovány v tabulce 19. Teplotní rampa 4, ačkoliv při jejím použití došlo také k výborné separaci HHCB a AHTN, nebyla vybrána proto, že byla zbytečně časově náročná.

Tabulka 19. Retenční časy v teplotní rampě 3

Standard	Retenční čas/ min
AMB	17,49
HHCB	18,09
AHTN	18,33
MK	20,33

4.2.1 Parametry optimalizované metody pro GC/MS

Toto nastavení a parametry metody byly následně použity pro analýzu reálných vzorků.

Tabulka 20. Optimalizované parametry metody pro GC/MS

GC/MS	
Teplotní rampa	teplotní rampa 3
Čas desorpce	7 minut
Průtok nosného plynu	0,8 ml/min
Lineární rychlost nosného plynu	36 cm/sec
Injektor	Splitless
Teplota injektoru	250 °C
Průtok nosného plynu v injektoru po nástřiku	15 ml/min
Teplota detektoru	230 °C
Teplota transferline	250 °C
Nastavení	Konstatní průtok
Mod	SIM
Vybrané ionty	243,253,258,268,279,294

4.3 Optimalizace SPME

4.3.1 Typ vláken

Důležitý parametr, který má významný vliv na množství nasorbované látky, je typ vlákna. K dispozici bylo několik typů vláken; viz. kapitola 3.3.4.1. U každého vlákna se porovnávala metoda provedení - headspace a ponoření. Zbylé parametry byly uvedeny; viz. kapitola 3.6.1.

Za nejvhodnější pro stanovení HHCB a AHTN lze považovat vlákno červené v provedení headspace, avšak při stanovení AMB a MK nebylo s jeho použitím dosaženo optimálních výsledků, a to jak u ponoření, tak u headspace.

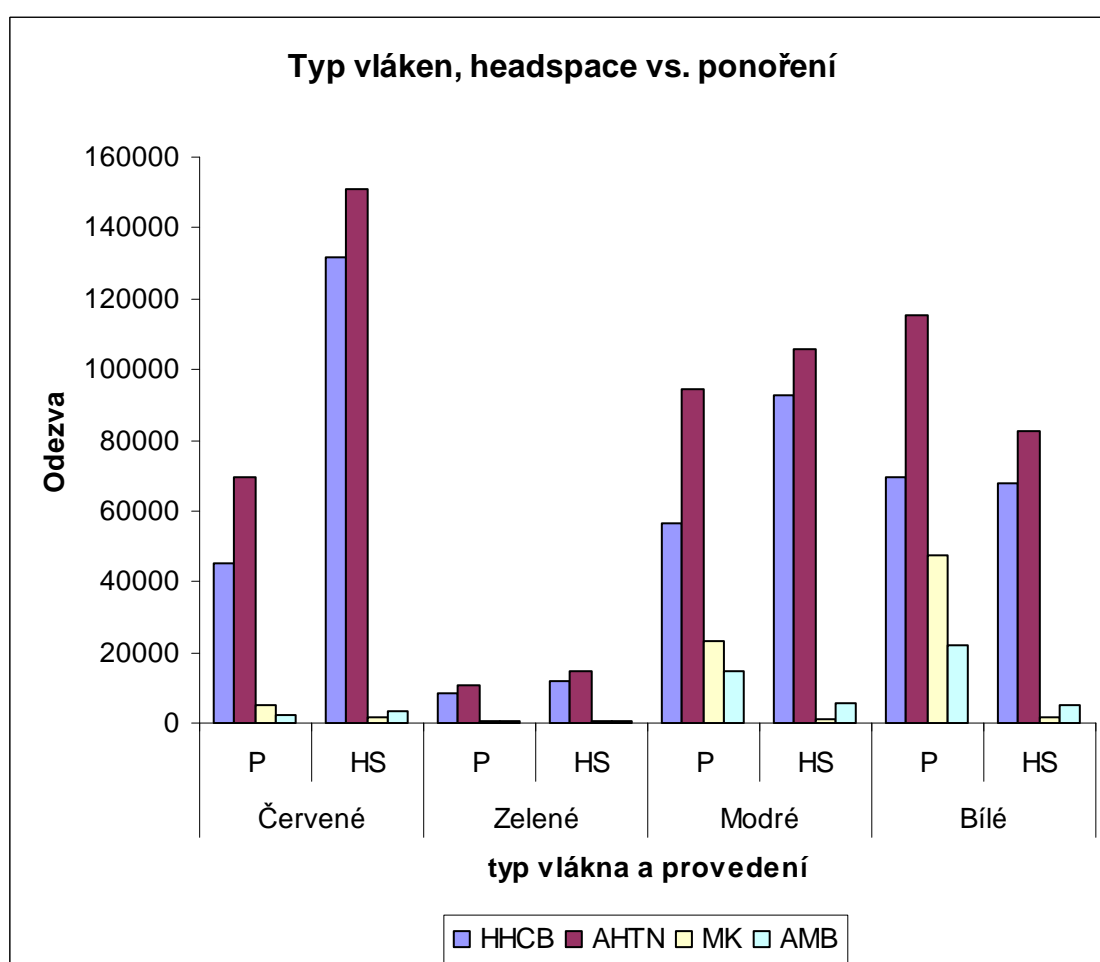
Nejhoší výsledky byly dosaženy se zeleným vláknem; analyty AMB a MK neměly žádné odezvy, HHCB a AHTN odezvy velmi nízké. Tyto poznatky byly získány jak pro ponoření, tak pro headspace.

Pomocí modrého vlákna bylo dosahováno v pořadí druhých nejlepších výsledků. Odezvy byly u HHCB a AHTN dobré, a to v případě obou technik (headspace a ponoření); odezvy pro MK a AMB byly podstatně nižší, zejména v případě headspace.

Oba tyto analyty (AMB a MK) však byly dobře izolované z matrice pomocí bílého vlákna, a to hlavně v případě ponoření.

Na základě posouzení všech získaných poznatků, a to zejména z hlediska určení, který postup nám umožňuje stanovit všechny čtyři sledované analyty, byl zvolen postup s využitím bílého vlákna - polyakrylát. Nejlepší provedení z hlediska sorpce analytů bylo ponoření. Aplikace tohoto postupu nám umožnila získat optimální hodnoty koncentrací u všech stanovovaných analytů. Porovnání množství nasorbovaných látek je uvedeno na obrázku 21.

Bílé vlákno – polyakrylát bylo použito ve všech následujících analýzách.



Obrázek 21. Typ vláken, headspace vs. ponoření

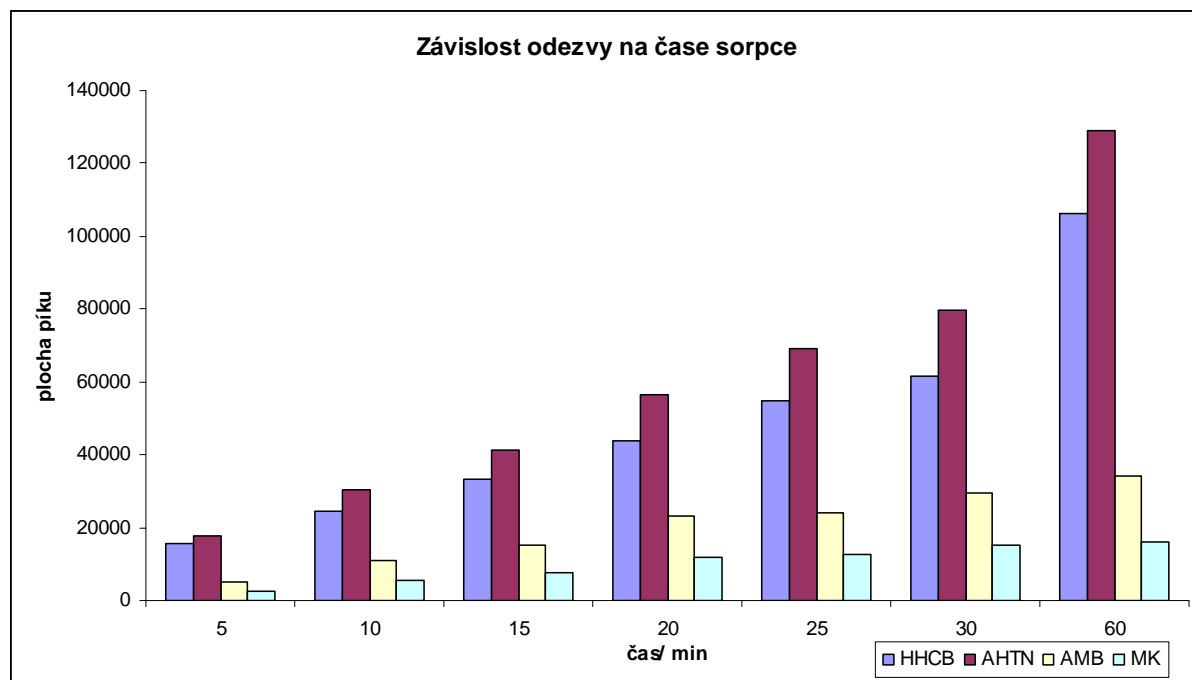
4.3.2 Čas sorpce

Doba nutná k vytvoření rovnováhy mezi extrakční vrstvou a vzorkem je další nutný krok, který musí být vyřešen v rámci optimalizace.

Jako ideální vlákno bylo vybráno vlákno bílé – polyakrylát, v provedení ponoření. Zbylé parametry byly uvedeny v kapitole 3.6.1. Testovala se následující časová řada: 5, 10, 15, 20, 25, 30 a 60 minut sorpce. Jak je patrné z grafu prezentovaném na obrázku 22, největší odezvu

poskytuje sorpce při 60 minutách. Současně bylo zjištěno, že příslušný nárůst již nebyl z časového hlediska, tzn. z doby celkové analýzy natolik významný. Proto byl jako optimální zvolen kratší čas sorpce, tj. 25 minut.

Největší změna v množství nasorbovaného množství je patrné u HHCB a AHTN. U MK a AMB nemá délka sorpce už téměř žádný vliv. Dá se však usuzovat, že rovnováha se vytvoří již během prvních 20-ti minut sorbce.



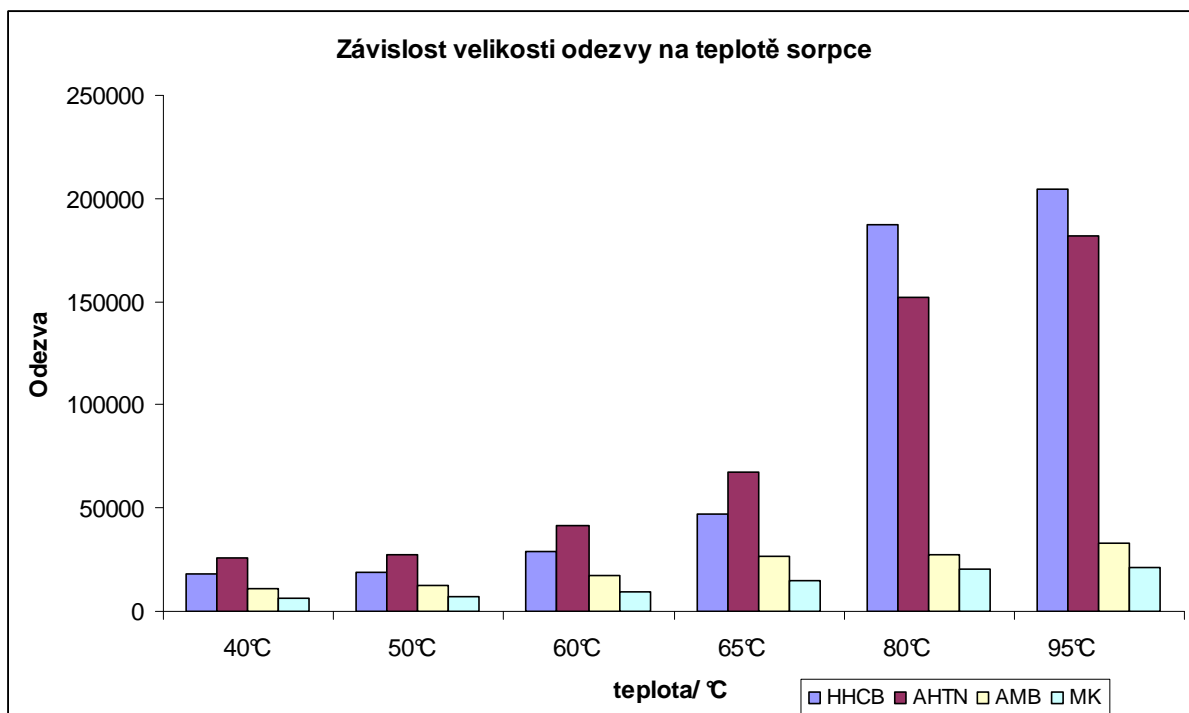
Obrázek 22. Závislost odezvy na čase sorpce

4.3.3 Teplota sorpce

Poslední z důležitých parametrů sorpce na SPME, který je nutné optimalizovat, je teplota. K optimalizaci teploty bylo použito bílé vlákno – polyakrylát a čas sorpce 25 minut. Na základě posouzení vlastností sledovaných musk sloučenin lze předpokládat, že pro analýzu bude vhodná vyšší teplota. Samotná vialka se vzorkem byla při provádění experimentu umístěna do vodní lázně. Maximální teplota, která byla v lázni dosažena, byla 95 °C. Voda nedosáhla 100°C, a to pravděpodobně díky velkému povrchu a následným tepelným ztrátám. Teplotní řada byla 40 °C, 50 °C, 60 °C, 65 °C, 80 °C a 95 °C.

U teplot 40 °C, 50 °C a 60 °C nebyl nárůst odezvy příliš znatelný. Avšak již změna o 5 °C na teplotu 65 °C nám poskytla markantnější zvýšení odezvy, než předchozí zvýšení teploty o 20 °C. Odezva byla cca 2,5x vyšší než u 40 °C. U teploty 80 °C byla velikost odezvy dokonce 10x vyšší než u teploty 40 °C. Další nárůst teploty sice přinesl další navýšení odezvy, objevily se však jiné potíže. Při teplotě 95 °C se z vodní lázně odpařuje velké množství vody a během sorpce je nutno ji doplňovat. To narušuje vytvořenou rovnováhu, protože doplňovaná voda má nižší teplotu. U samotné vialky se při nejvyšší teplotě nadouvá septum a kolem jehly uniká atmosféra z vialky. Dochází tak k dalšímu porušování rovnováhy a ke ztrátám analytu. Navzdory těmto negativním důsledkům byla odezva při teplotě 95 °C největší, avšak rozdíl v porovnání s teplotou 80 °C nebyl velký. Proto byla nakonec vybrána teplota 80°C.

Důvodem byla především velká odezva, stabilnější prostředí oproti teplotě 95 °C a žádné úniky atmosféry přes septum z vialky a okolo jehly SPME.



Obrázek 23. Závislost velikosti odezvy na teplotě sorpce

4.3.4 Parametry optimalizované metody SPME

Tabulka 21. Optimalizované parametry metody pro SPME

SPME	
Vlákno	Bílé –polyakrylát (PAC) 85µm
Provedení	ponoření – AMB, MK headspace – HHCB, AHTN
Objem vzorku	14 ml
Teplota	80°C
Doba ustálení	5 min
Doba expozice vlákna	25 min
Rychlost míchání	900 ot/min

4.4 Stanovení analytů v reálných vzorcích

Reálné vzorky specifikované v kapitole 3.7. byly analyzovány optimalizovaným postupem, který má parametry v kapitole 4.2.1. a 4.3.4. V následujících kapitolách jsou shrnuty výsledky měření za jednotlivé dny. Výpočet množství analytu ve vzorku byl proveden pomocí metody standardního přídávku.

Během období provádění optimalizace bylo proměřeno i několik reálných vzorků. Při jejich měření se zjistilo, že vliv matriční efekt působící ve vzorku před ultrafiltrací významně negativně ovlivňuje stanovení všech analytů. Vliv byl natolik významný, že i po přidání

přídavku (1,427 ng/ml v 14 ml) AMB a MK do vzorku nebyly tyto analyty ve vzorku detekovány. HHCB a AHTN bylo možné identifikovat v neředěném vzorku, avšak po přidání standardního přídavku se jejich odezva v neředěném vzorku nezvýšila. Na základě toho bylo přistoupeno k naředění vzorků, a to v poměru 1:5 při zachování celkového objemu 14 ml. Vzorek byl pro tyto účely ředěn destilovanou vodou. Po tomto naředění a při provedení ponoření, již bylo možné AMB a MK detekovat a současně se také podstatně zvýšila odezva po přidání standardního přídavku. Oba tyto analyty reagovaly zvýšením odezvy na přidání standardní přídavek. Další dva analyty, HHCB a AHTN, neposkytovaly ani při naředění 1:5 odezvy na standardní přídavky. Proto bylo v tomto případě rozhodnuto zvýšit naředění na 1:10 a provést změnu izolace analytu, a to pomocí headspace. Při tomto naředění se v důsledku standardního přídavku již podstatně zvýšila koncentrace HHCB a AHTN. Větší naředění při stanovení HHCB a AHTN mohlo být provedeno také vzhledem k očekávaným vyšším koncentracím v reálném vzorku; jejich vysoká tenze par umožnila rovněž provedení headspace. Standardní přídavek se přidával v objemu 200 µl, kde byla v případě HHCB koncentrace 12 ng/ml a v případě AHTN 1,427 ng/ml. Protože bylo z metodického hlediska nezbytné stanovovat vždy dva analyty odděleně, a to jednu skupinu s izolací pomocí headspace a druhou ponořením, byly vytvořeny dva pracovní roztoky, jak je uvedeno v kapitole 3.3.2. Směsný pracovní roztok PR3 se používal pro stanovení HHCB a AHTN pro provedení headspace, s naředěním vzorku 1:10 a směsný pracovní roztok PR4 se používal ke stanovení AMB a MK v provedení ponoření, s naředěním 1:5.

Vzorky po ultrafiltraci nebyly již tak problematické jako vzorky před ultrafiltrací. Předpokládali jsme však, že koncentrace analytů budou nižší. Z tohoto důvodu byl přídavek standardu 50 µl. Do vzorku po ultrafiltraci bylo přidáno konkrétně 50 µl z PR3 a 50 µl PR4. Přidávané množství bylo 3 ng/ml u HHCB a 0,357 ng/ml u všech ostatních standardů. V rámci vzorků po ultrafiltraci bylo ve všech případech použito ponoření vlákna.

Tabulka 22. Zjištěná množství sledovaných analytů ve vzorcích, přítok = před ultrafiltrací, odtok = po ultrafiltraci

Datum odběru	HHCB		AHTN		AMB		MK	
	Přítok (ng/ml)	Odtok (ng/ml)	Přítok (ng/ml)	Odtok (ng/ml)	Přítok (ng/ml)	Odtok (ng/ml)	Přítok (ng/ml)	Odtok (ng/ml)
19.4.	188,0	0,660	24,64	0,179	ND	ND	2,28	0,082
20.4.	575,0	NQ	141,0	0,220	ND	ND	0,74	0,010
21.4.	54,10	1,840	33,32	0,695	ND	ND	2,56	0,020
22.4.	213,0	0,560	33,69	0,231	ND	ND	ND	ND
23.4.	31,10	0,550	12,80	0,811	ND	ND	ND	ND
26.4.	211,0	1,740	15,86	0,736	ND	ND	ND	ND
27.4.	86,70	0,670	5,190	0,172	ND	ND	ND	NQ
28.4.	50,10	0,500	10,62	0,156	ND	ND	ND	ND
29.4.	772,0	0,570	57,56	0,145	ND	ND	ND	NQ
30.4.	77,60	0,520	12,31	0,151	ND	ND	ND	NQ
průměr	225,9	0,850	34,74	0,350			1,860	0,037

Jak vyolývá z tabulky 24, nejvyšší koncentrace byly prokázány u HHCB ve vzorcích před ultrafiltrací, kdy maximum bylo 772 ng/ml a minimální koncentrace byla 31,1 ng/ml. Ve

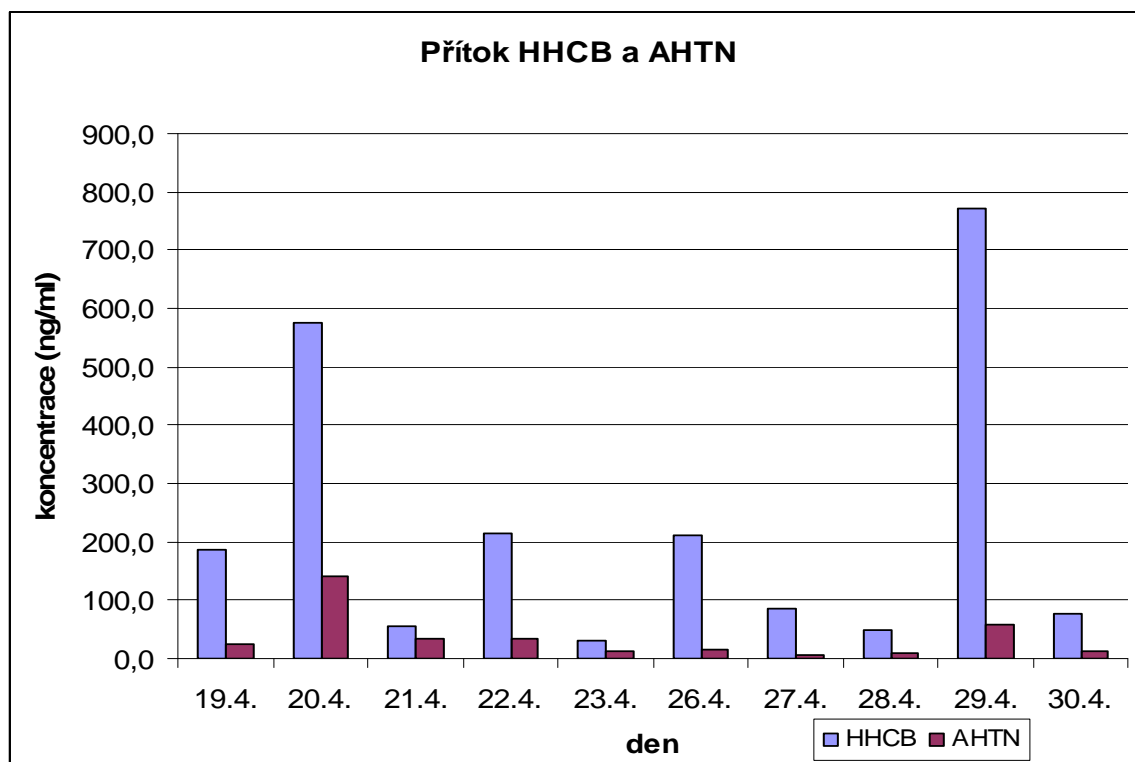
vzorcích na odtoku se koncentrace pohybovala v nízkých koncentračních. Koncentrační interval po ultrafiltraci byl NQ – 1,84 ng/ml.

AHTN bylo detekováno v podstatně nižších koncentracích, než u HHCB. Maximálních koncentrací bylo dosaženo ve vzorcích před ultrafiltrací, kdy maximum naměřené koncentrace bylo 141 ng/ml a minimum ve vzorcích před ultrafiltrací 5,19 ng/ml. obsahovaly Koncentrace AHTN ve vzorcích po ultrafiltraci se pohybovaly v rozmezí 0,145 - 0,811 ng/ml.

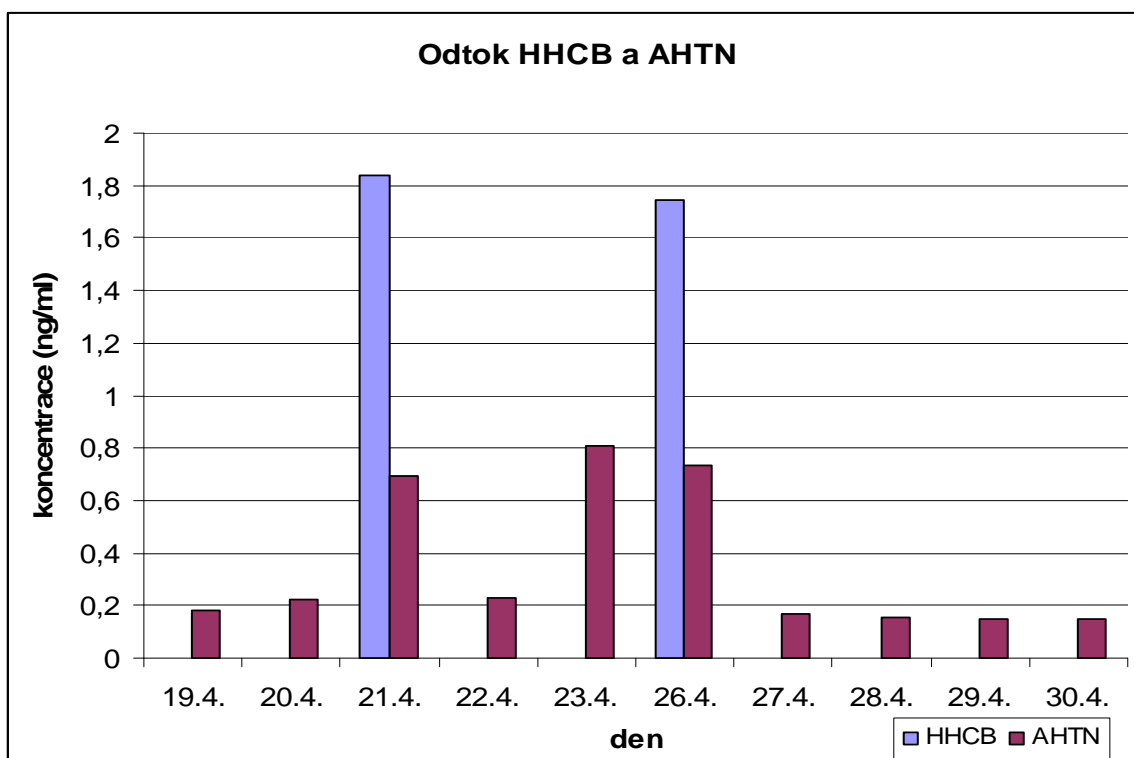
Další sledovaná musk sloučenina, a to musk ambrette (AMB) byla ve všech případech ve vzorcích pod mezí kvantifikace.

Musk keton (MK) byl v přítoku identifikován pouze v prvních třech dnech analýzy. Rozmezí koncentrací bylo v tomto případě pouze 0,74-2,56 ng/ml.

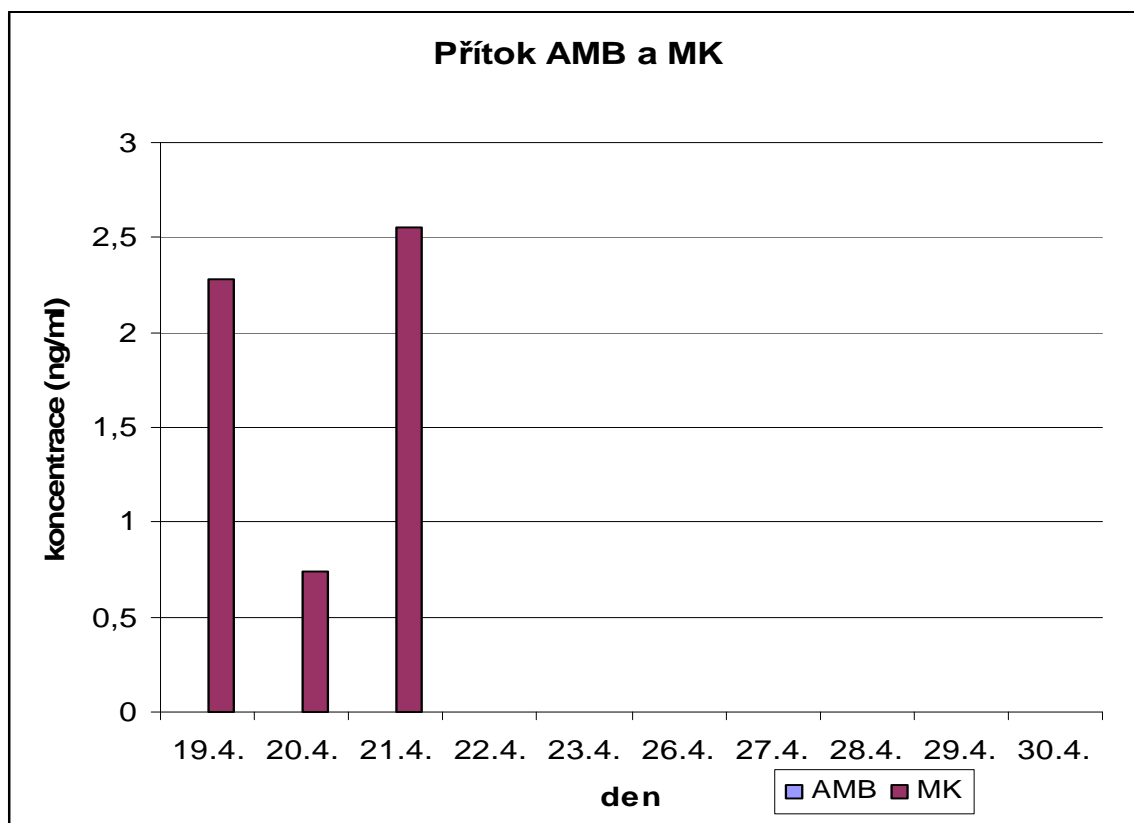
Pro názornost byly zjištěné hodnoty HHCB a AHTN na přítoku do ultrafiltrace a na odtoku z ultrafiltrace zpracovány do grafů, které jsou prezentovány na obrázcích 28 a 29; hodnoty musk ambrette a musk ketonu na obrázcích 30 a 31.



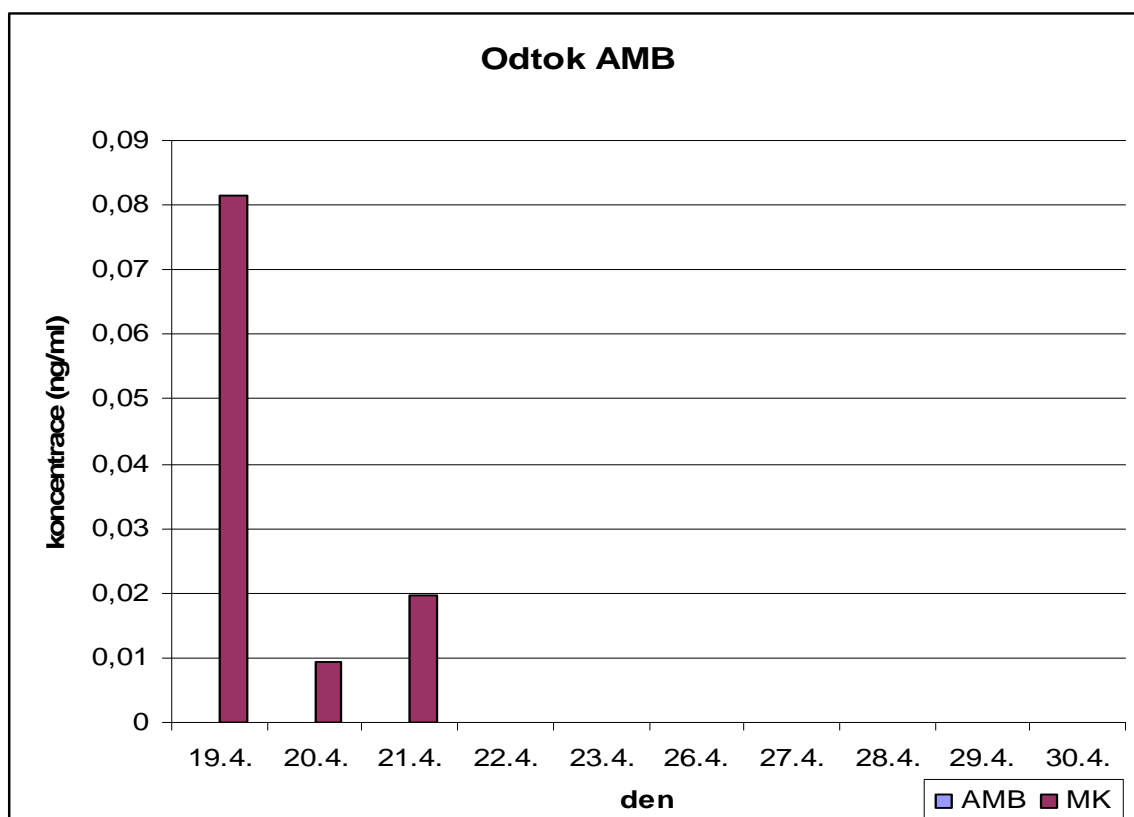
Obrázek 24. Koncentrace (ng/ml) HHCB a AHTN na přítoku do ultrafiltrace



Obrázek 25. Koncentrace (ng/ml) HHCB a AHTN na odtoku z ultrafiltrace



Obrázek 26. Koncentrace (ng/ml) AMB a MK na přítoku z ultrafiltrace



Obrázek 27. Koncentrace (ng/ml) AMB a MK na odtoku z ultrafiltrace

4.4.1 Účinnost ultrafiltrace

Prostřednictvím námi vypočtených hodnot byla posuzována účinnost ultrafiltrace. Ultrafiltrace snížila koncentrace stanovovaných analytů významným způsobem, což je prezentováno v tabulce 24.

Tabulka 23. Účinnost ultrafiltrace

Datum	HHCB	AHTN	AMB	MK
	Odstranění (%)	Odstranění (%)	Odstranění (%)	Odstranění (%)
19.4.	99,65	99,27	NA	96,43
20.4.	99,96	99,84	NA	98,71
21.4.	96,60	97,91	NA	99,23
22.4.	99,74	99,32	NA	NA
23.4.	98,23	93,66	NA	NA
26.4.	99,17	95,36	NA	NA
27.4.	99,23	96,69	NA	NA
28.4.	99,00	98,53	NA	NA
29.4.	99,93	99,75	NA	NA
30.4.	99,33	98,77	NA	NA
průměr	99,08	97,91	NA	98,12

U všech tří detekovaných analytů dosahovala účinnost odstranění musk sloučenin až 99%; u HHCB se tato účinnost pohybovala v intervalu 96,60-99,93 %, u AHTN v intervalu 93,66-99,84 % a u MK v intervalu 96,43-99,23 %.

Průtok odpadní vody v ultrafiltraci kolísá v rozmezí 160-300 l/h. Provoz zařízení je v chodu pouze ve všední pracovní dny po dobu 10 hodin denně. Pro roční bilanci je počítáno s 253 pracovními dny. Průměrný průtok odpadní vody ultrafiltrací se pohybuje okolo 230 l/h. Důležitý je výstup do městské veřejné kanalizace, tj. vody mířící na čističku odpadních vod v Brně-Modřicích. Pro přehlednost jsou v následující tabulce 24 uvedena i množství analytů přiváděná na ultrafiltraci. Všechny hodnoty jsou počítány na průměrný průtok 230l/h.

Tabulka 24. Množství analytů ve vzorcích, časová bilance

Přítok na ultrafiltraci				
množství	HHCB	AHTN	AMB	MK
hodina (mg/h)	51,95	7,990	ND	0,430
den (mg/den)	519,5	79,90	ND	4,208
tyden (mg/tyden)	2597	399,5	ND	71,86
mesic (g/měsíc)	10,39	1,600	ND	0,090
rok (g/rok)	131,4	20,21	ND	1,080
Odtok z ultrafiltrace				
množství	HHCB	AHTN	AMB	MK
hodina (mg/h)	0,190	0,081	ND	0,010
den (mg/den)	1,950	0,803	ND	0,081
tyden (mg/tyden)	9,730	4,022	ND	1,431
mesic (g/měsíc)	0,041	0,021	ND	0,001
rok (g/rok)	0,489	0,203	ND	0,023

Z tabulky 24 lze vyčíst, že pokud bude zachován trend zjištěný během 10-ti měřících dnů, bude se množství musk sloučenin pohybovat od jednotek kilogramů po desítky gramů. Přesněji řečeno, za rok je vypuštěno 0,46 g HHCB, 200 g AHTN a 20 mg MK; AMB nebyl nikde identifikován.

4.5 Stanovení LOD a LOQ

Určení hodnoty limitu detekce (LOD) zaručuje odlišení signálu od šumu a hodnota limitu kvantifikace je minimální množství analytu, u kterého můžeme s vysokou pravděpodobností určit jeho množství. Pokud jsou hodnoty signálu v intervalu mezi LOD a LOQ, hovoříme o tom, že jsme analyt zachytili, ale nemohli jsme jej kvantifikovat.

Pro určení limitů detekce (LOD) a limitu kvantifikace (LOQ) byly vytvořeny kalibrační křivky pro každý hledaný analyt zvlášť. Řada koncentrací se lišila u každého analytu a byla snaha pokrýt křivkou veškerou odezvu, která se během měření vyskytla. Největší rozsah byl zjištěn u HHCB; tento analyt měl i v reálných vzorcích největší koncentraci. Proměřením každého vzorku byla získána závislost odezvy na koncentraci analytu. Do rovnice této závislosti se dosazuje hodnota průměrného blanku za x . Blank se měřil každý měřící den, hodnoty nakonec byly zprůměrovány za celou dobu měření. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 25.

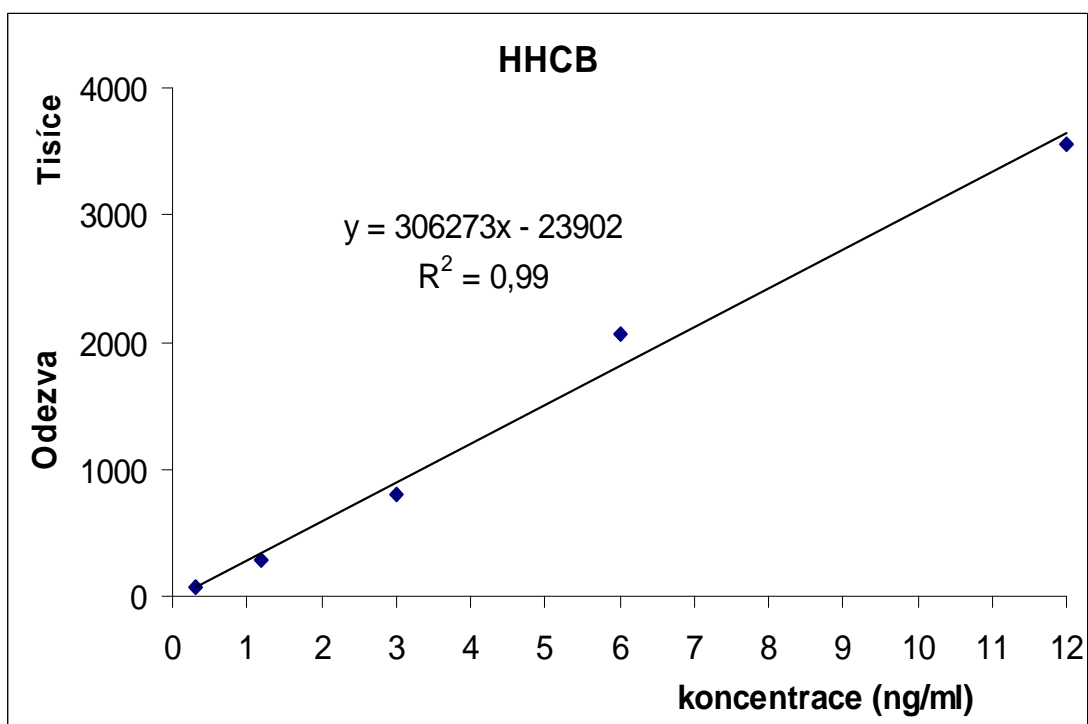
Lineární rozsah měření byl hodnocen podle koeficientu R^2 . Tento koeficient se pohyboval u všech vzorků v rozmezí 0,99-0,9856, což dokumentuje velmi dobrou linearitu. Výsledné hodnoty LOD a LOQ jsou uvedeny v tabulce 24.

Tabulka 25. Hodnoty průměrného blanku

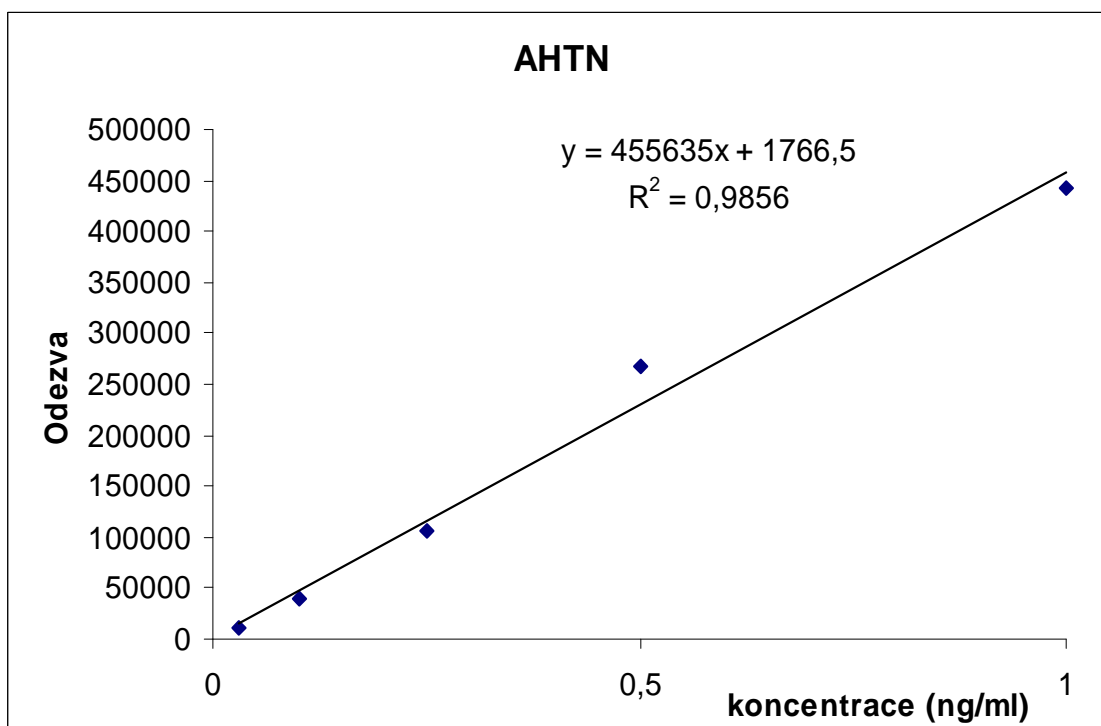
	HHCB	AHTN	AMB	MK
Blank	2968,0	2050,0	11,2	29,8

Tabulka 27. Hodnoty LOD a LOQ

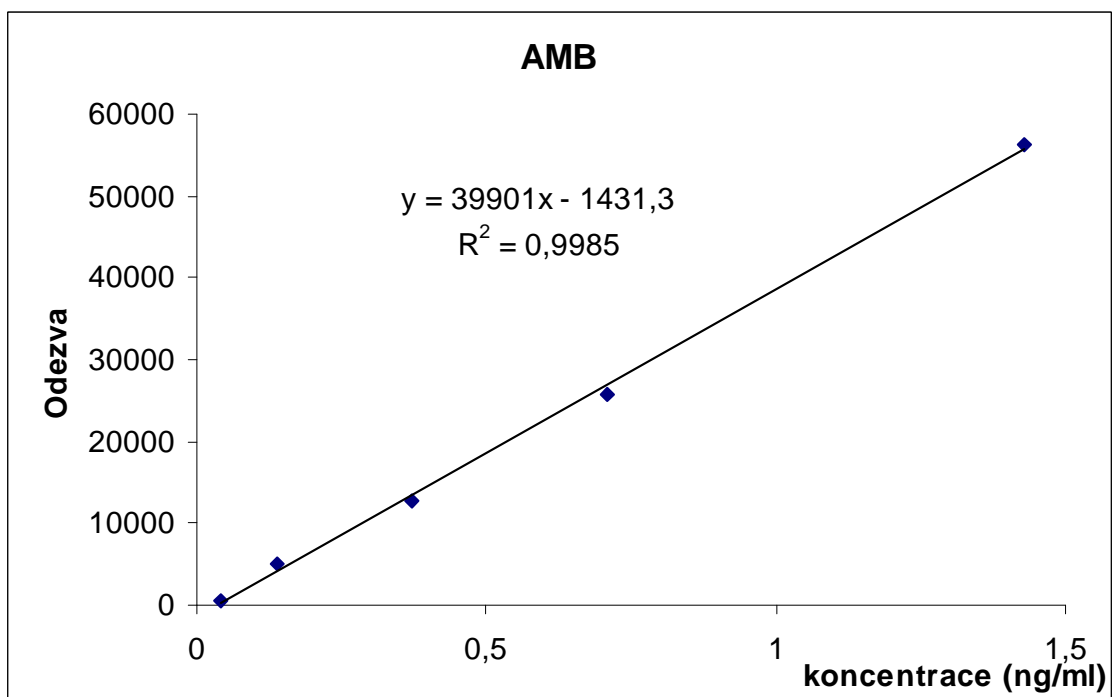
Standard	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
HHCB	0,088	0,292
AHTN	0,001	0,002
AMB	0,036	0,120
MK	0,001	0,002



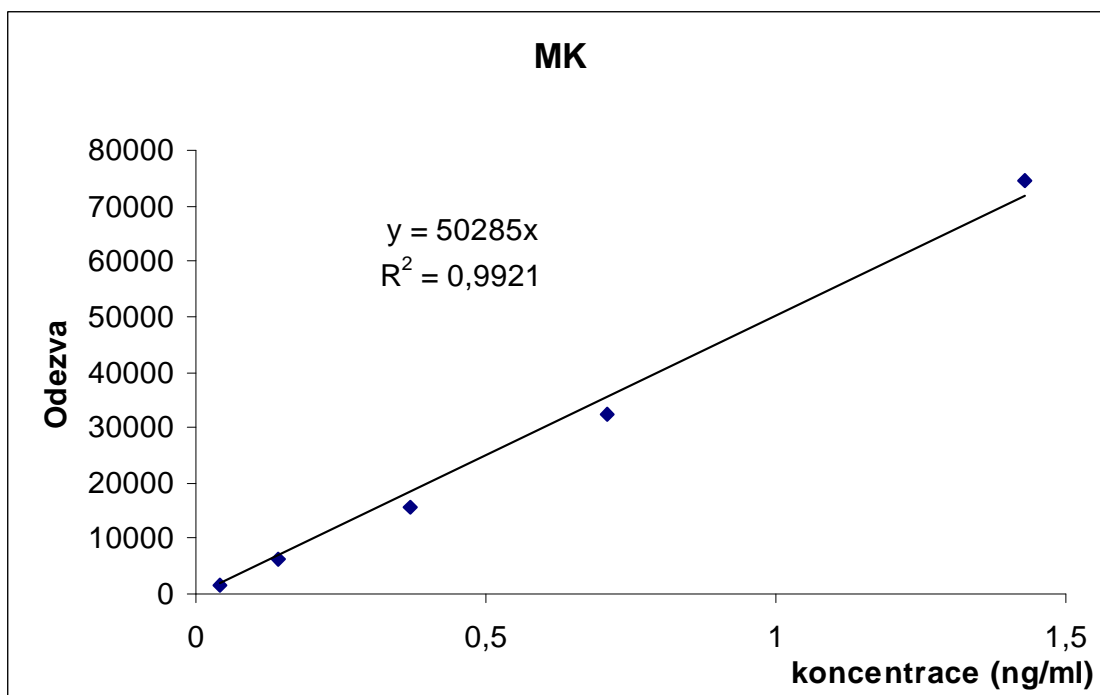
Obrázek 28. Kalibrační křivka pro HHCB



Obrázek 29. Kalibrační křivka pro AHTN



Obrázek 30. Kalibrační křivka pro AMB



Obrázek 31. Kalibrační křivka pro MK

4.6 Nejistoty analytických výsledků

Nejistota měření vyjadřuje míru spolehlivosti výsledků. Žádný přístroj není absolutně přesný. V celém měřicím procesu se mohou vyskytovat náhodné chyby, které v konečném důsledku ovlivňují získaný výsledek. Tato chyba se projevuje jako odchylka, případně jako rozmezí, ve kterém se správné výsledky pohybují. Výsledek se proto pohybuje v jakémsi „tolerančním poli“.

Rozdíl mezi naměřenou hodnotou a skutečnou hodnotou se nazývá absolutní chyba měření. Tato chyba má dvě složky - chybu systematickou a chybu náhodnou.

Systematické chyby jsou způsobeny použitím nevhodné nebo méně vhodné měřicí metody, nepřesným měřicím zařízením nebo chybou osoby obsluhující měřicí zařízení. Tyto chyby zkreslují výsledek pravidelným způsobem, tzn., že ho buď vždy zvětšují, nebo vždy zmenšují, a to bez ohledu na počet opakování měření.

Náhodné chyby kolísají jak ve své velikosti, tak také ve znaménku. Vznikají náhodně při opakování měření a mají svůj původ ve spolupůsobení velkého počtu různých činitelů.

Poslední skupinou jsou chyby hrubé, které vznikly selháním přístroje nebo chybou při přípravě vzorku. Tyto chyby je třeba odstranit z výpočtu, aby neovlivňovaly výsledek.

Systematické chyby ovlivňují správnost měření a náhodné chyby mají vliv na přesnost měření. Náhodné chyby na rozdíl od systematických a hrubých chyb, nejsme schopni ovlivnit.

Počet opakování měření byl u každého vzorku 3. Nakonec byla vypočítána celková relativní směrodatná odchylka.

Opakovatelnost

Ke stanovené opakovatelnosti byl vybrán přítokový vzorek (29. 4. 2010). Byl změřen celkově 5x a opakovatelnost byla vypočtena jako RSD.

Tabulka 26. Relativní směrodatná odchylka

Standard	RSD (%)
HHCB	20,56
AHTN	21,04
AMB	6,38
MK	8,64

5 ZÁVĚR

Cílem předkládané diplomové práce bylo stanovení koncentrace čtyř zástupců syntetických analogů pižma - musk sloučenin vyskytujících se v odpadních vodách kosmetické firmy. Musk sloučeniny našly své uplatnění v kosmetickém průmyslu a dalších přidružených odvětvích jako aromatizační látky. Jejich výskyt ve většině složek životního prostředí je dán jejich masivním používáním, převážně v posledních desítkách let. Tyto tzv. syntetické analogy pižma, které se v odpadních vodách zjišťovaly, byly galaxolid (HHCB), tonalid (AHTN), musk ambrette (AMB) a musk keton (MK).

Prvním krokem vedoucím ke stanovení určitých analytů je optimalizace metody, která umožní izolaci, identifikaci a kvantifikaci jednotlivých studovaných analytů. Při optimalizaci metody byl kladen největší důraz na časovou nenáročnost, eliminaci chyb během celého postupu a na zabránění kontaminace vnějšího prostředí. Vzorky odpadní vody byly odebrány v kosmetické firmě před a za ultrafiltrací. Při analýze byly výše specifikované analyty izolovány z matrice pomocí SPME - mikroextrakce tuhou fází, přičemž vlastní identifikace a kvantifikace byla provedena pomocí GC/MS - plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí. Získané výsledky byly shrnuty do následujících bodů:

- Byly stanoveny retenční charakteristiky stanovovaných analytů.
- Byla optimalizována metoda GC/MS – vytvořena teplotní rampa, která zaručuje účinnou separaci všech stanovovaných analytů
- Byla optimalizována metoda mikroextrakce tuhou fází - SPME. Optimalizace této metody byla zaměřena na typ použitého vlákna, metodu provedení, tj. ponoření vlákna do vody vs. headspace, teplotu sorpce a čas sorpce.
- Bylo provedeno stanovení sledovaných analytů v reálných vzorcích metodou SPME s analytickou koncovkou reprezentovanou GC/MS. Ve všech vzorcích odebraných před ultrafiltrací byl nalezen HHCB a AHTN. Koncentrační intervaly se pohybovaly pro HHCB v rozmezí 31,1-772 ng/ml a pro AHTN v intervalu 5,2-141 ng/ml. Ve vzorcích odebraných před ultrafiltrací nebyl detekován AMB, musk keton byl prokázán pouze ve třech případech. Koncentrační interval, ve kterém se pohybovala koncentrace musk ketonu v odpadní vodě přitékající do ultrafiltrace, byl 0,74-2,56 ng/ml.
- V odpadní vodě vytékající z ultrafiltrace bylo ve všech vzorcích detekováno AHTN. Koncentrační interval byl 0,15-0,81 ng/ml. HHCB byl ve vzorcích odpadní vody odebrané po ultrafiltraci identifikován kromě jednoho vzorku ve všech ostatních. Koncentrační interval, ve kterém se HHCB pohyboval, byl 0,52-1,84 ng/ml. AMB nebyl v odpadní vodě odtékající z ultrafiltrace detekován. MK byl zjištěn, stejně jako v odpadní vodě před ultrafiltrací, pouze ve třech případech. Jeho koncentrace se pohybovaly v rozmezí 0,01-0,08 ng/ml.
- Bylo posouzeno množství analytů přicházejících na ultrafiltraci. Ultrafiltrace je funkční pouze ve všední pracovní dny a je pouštěna 10 h denně. Toto nastavení je dostačující pro potřeby firmy. Výkyvy v průtoku odpadní vody vyrovnávají dva zásobníky na odpadní vodu umístěné v areálu firmy. Ve výpočtu se předpokládá 253 pracovních dnů v roce 2010, pro výpočet vypuštěných látek za celý rok a 20 dnů pro každý měsíc. Množství analytů přitékajících na ultrafiltraci je: HHCB 131,4 g/rok,

10,39 g/měsíc; AHTN 20,21 g/rok, 1,60 g/měsíc; MK 1,08 g/rok, 0,09 g/měsíc a AMB nebylo ve vzorcích vůbec detekováno.

- Množství vypuštěných analytů bylo následující: HHCB 0,49 g/rok, 0,04 g/měsíc; AHTN 0,20 g/rok, 0,02 g/měsíc; MK 0,02 g/rok a 1,70 mg/měsíc. AMB nebylo ve vzorcích vůbec prokázáno. Z výsledků je patrné výrazné snížení množství stanovaných analytů. Účinnost ultrafiltrace na odstraňování musk sloučenin v tomto konkrétním případě se pohybovala v intervalu 96-99 %.

Přestože je účinnost ultrafiltrace velká, stále se dostávají analyty do odpadní vody, která putuje následně na městskou čistírnu odpadní vody. Z čistírny odpadních vod pak část analytů uniká dále do životního prostředí. V oblasti této problematice není stále dostatek informací, a proto je nutný další výzkum.

6 SEZNAM ZDROJŮ

- [1] ZOUHAR, Libor. *Syntetické vonné látky ve vodní biotě*. Brno, 2009. 96 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [2] BLAHOVÁ, Eliška. *Stanovení vybraných "Musk" sloučenin v biotických vzorcích*. Brno, 2008. 73 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [3] RIMKUS, G.; RIMKUS, B.; WOLF, M. Nitro musks in human adipose tissue and breast milk. *Chemosphere*. 1994, 28, s. 421 - 432. Dostupný také z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>
- [4] HUTTER, H.-P., et al. Syntetic musks in blood of healthy young adults: Relationship to cosmetic use. *Science of the Total Environment*. 2009, 407, s. 4821 - 4825. Dostupný také z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/>>.
- [5] GATERMANN, R., et al. Synthetic Musks in Environment. : Part 1: Species - Dependt Bioaccumulation of Polycyclic and Nitro Musk Fragrances in Freshwater Fish and Mussels. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2002, 42, s. 437 - 446. Dostupný také z WWW: <<http://www.springerlink.com>>.
- [6] Musk xylene and other musks. *Hazaedous Substances Series : OSPAR*. 2004, 1, s. 1 - 45. Dostupný také z WWW: <http://www.ospar.org/documents/dbase/publications/p00200_BD%20on%20musk%20xylene.pdf>.
- [7] JELÍNEK, Jan; ZICHÁČEK, Vladimír. *Biologie pro gymnázia*. Olomouc : Nakladatelství Olomouc, 1999. 552 s.
- [8] CAMPBELL, Neil A.; REECE, Jane B. *Biologie*. 6th. edition. Brno : Computer press a.s., 2006. 1333 s
- [9] BÍLEK, Mgr. Jiří. *Zdravotní ústava se sídlem v Ostravě* [online]. 2005 [cit. 2010-04-10]. Čich a pachové látky. Dostupné z WWW: <http://www.zuova.cz/informace/obecne/info001_bilek_jiri-cich_a_pachove_latky.pdf>.
- [10] *FM Group Czech* [online]. 2010 [cit. 2010-04-10]. - HISTORIE VŮNÍ -. Dostupné z WWW: <http://www.e-parfemyfm.cz/index.php?main_page=historie_vuni>.
- [11] HLAVA, B.; STARÝ, F.; POSPÍŠIL, F. *Rostliny v kosmetice*. Praha : Artia, 1987. 240 s.
- [12] KRAFT, P. ; BAJGROWICZ, J. A.; DENNIS, C. *Chemistra and Technology of Flavor and Fragrances*. USA : CRC Press LCC, 2005. 173 s. Dostupné z WWW: <<http://books.google.cz>>.

- [13] MALÝ, Josef; HLAVÍNEK, Petr. *Čištění průmyslových vod*. 1. vydání. Brno : Noel, 2000. 255 s.
- [14] SOMMER, Cornelia. The Role of Musk and Musk Compounds in the Fragrance Industry. *The Handbook of Enviromental Chemistry*. 2004, 3, s. 1 - 16.
- [15] *The Good Scents Company* [online]. 2010 [cit. 2010-04-20]. Musk ambrette. Dostupné z WWW: <<http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1008671.html>>.
- [16] *The Good Scents Company* [online]. 2010 [cit. 2010-04-20]. Musk ketone. Dostupné z WWW: <<http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1008691.html>>.
- [17] *The Good Scents Company* [online]. 2010 [cit. 2010-04-20]. Musk gx 100%. Dostupné z WWW: <<http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1104661.html>>.
- [18] *The Good Scents Company* [online]. 2010 [cit. 2010-04-20]. Musk tetralin. Dostupné z WWW: <<http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1016651.html>>.
- [19] Přehled aktivit realizovaných v rámci projektu MŽP "Monitoring cizorodých látek v potravních řetězcích v ČR", výstupy vybraných pilotních studií. In HAJŠLOVÁ, J., et al. *Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech*. Praha : VŠCHT v Praze, 2001. s. 12-33.
- [20] Sledování lipofilních kontaminantů ve vybraných profilech Labe a Vltavy technikou SPMD.. In KOCOUREK, V.; ŠETKOVÁ, L.; HAJŠLOVÁ, J. *Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech*. Praha : VŠCHT v Praze, 2001. s. 98-105.
- [21] ASCHMANN, SM, et al. Atmospheric lifetimes and fates of selected fragrance materials and volatile model compounds. *Enviromental Science & Technology*. 2001, 18, s. 3595-3600.
- [22] XIAMING, Zhao; SCHWACK, Wolfgang. Photochemical behavior of musk ambrette. *Chemosphere*. 1999, 1, s. 11-21.
- [23] BUTTE, Werner; SCHMIDT, Susanne; SCHMIDT, Anke. Photochemical degradation of nitrated musk compounds . *Chemosphere*. 1999, 6, s. 1287-1291.
- [24] SUPPORT DOCUMENT FOR IDENTIFICATION OF 5-TERT-BUTYL-2,4,6-TRINITRO-M-XYLENE AS A SUBSTANCE OF VERY HIGH CONCERN. *Europian Chemicals Agency*. 2008, 1, s. 1-30.
- [25] HAWKINS, David R., et al. Dermal absorption and disposition of musk ambrette, musk ketone and musk xylene in human subjects . *Toxikology Letters*. 2002, 3, s. 147-151.
- [26] *TOXNET* [online]. 2001 [cit. 2010-04-22]. Musk ambrette. Dostupné z WWW: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+ccris:@term+@rn+83-66-9>

- [27] *TOXNET* [online]. 1998 [cit. 2010-04-22]. Musk ketone. Dostupné z WWW: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+ccris:@term+@rn+81-14-1>>.
- [28] *TOXNET* [online]. 2008 [cit. 2010-04-22]. Galaxolide. Dostupné z WWW: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+ccris:@term+@rn+1222-05-5>
- [29] *TOXNET* [online]. 2008 [cit. 2010-04-22]. Tonalide. Dostupné z WWW: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+ccris:@term+@rn+1506-02-1>
- [30] PAWLISZYN, Barbara; PAWLISZYN, Michael. Solid Phase Microextraction (SPME). *The Chemical Educator*. 1997, 4, s. 1-7.
- [31] *Sigma-Aldrich* [online]. 2009 [cit. 2010-04-23]. Mikroextrakce tuhou fází - teorie a optimalizace podmínek. Dostupné z WWW: http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/SigmaAldrich/General_Information/11.Par.0001.File.tmp/11.pdf
- [32] *Sigma-Aldrich* [online]. 2009 [cit. 2010-04-23]. Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů. Dostupné z WWW: <https://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/SigmaAldrich/General_Information/21.Par.0001.File.tmp/21.pdf>.
- [33] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Ostrava : Pavel Klouda, 2003. 132 s.
- [34] ŠEVČÍK, Jiří G.K. *Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy* [online]. 2002 [cit. 2010-04-24]. PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE A JEJÍ APLIKACE V ORGANICKÉ ANALÝZE. Dostupné z WWW: http://web.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn_chrom.pdf
- [35] *Faculty of Science Masaryk University* [online]. 2001 [cit. 2010-04-24]. Hmotnostní spektrometrie. Dostupné z WWW: <http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/MS/ms.pdf>.
- [36] L., Sommer. *Základy analytické chemie II.*. Brno : VUTIUM, 2000. 348 s.
- [37] FRÁTER, Greorg; BAJGROWICZ, Jerzy A.; KRAFT, Phillip. Fragrance Chemistry. *Tetrahedron*. 1998, 54, s. 7633-7703.
- [38] ZHAN, Xiaolan, et al. Synthetic musks in the aquatic environment and personal care products in Shanghai. *Chemosphere*. 2008, 72, s. 1553-1558.
- [39] SUTER-EICHENBERGER, Regina, et al. Bioaccumulation of Musk Xylene (MX) in Developing and Adult Rats of both Sexes. *Chemosphere*. 1998, 36, s. 2747-2762

- [40] HERREN, D.; BERSET, J.D. Nitro musks, nitro musk amino metabolites and polycyclic musks in sewage sludges : Quantitative determination by HRGC-ion-trap-MS/MS and mass spectral characterization of the amino metabolites. *Chemosphere*. 2000, 40, s. 565-574
- [41] API, A. M.; PFITZER, E. A. ; SAN, R. H. C. An Evaluation of Genotoxicity Tests with Musk Ketone. *Food and Chemical Toxicology*. 1996, 34, s. 633-638
- [42] TORNEMAN, Niklas. Screening of musk substances. *Swedish Environmental Protection Agency*. 2008, 2, s. 1-37.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AFID	plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem
AHTN	tonalid
AMB	musk ambrette
BFC	biokoncentrační faktor
BMI	body mass index
CAS	identifikační číslo dle „Chemical Abstracts Service“
CI	chemická ionizace
ECD	detektor elektronového záhytu
EI	elektronová ionizace
ESI	elektrosprej
ETH	Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
FI	ionizace polem
FID	plamenový ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
HHCB	galaxolid
HRMS	analyzátor s dvojitou fokusací
HS	headspace
ICR	iontová cyklotronová rezonance
IRS	infračervený spektrometr
IT	iontová past
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
K _{ow}	rozdělovací koeficient n-oktanol / voda
LOD	limit detekce
LOQ	limit kvantifikace
MALDI	ionizace laserem za účasti matrice
MK	musk keton
MS	hmotnostní spektrometrie
MUSK	syntetické analogy pižma
NOEC	nejvyšší koncentrace nezpůsobující pozorovatelný účinek na organismus
PLOT	kolona s vrstvou pevného sorbentu na vnitřní stěně
POP's	perzistentní organické polutanty
RSD	relative standard deviation, relativní směrodatná odchylka
SCAN	režim hmotnostního analyzátoru určený pro snímání celého hmotnostního spektra
SCOT	kolona s kapalnou stacion. fází zakotvenou na povrchu pevného nosiče
SIM	režim hmotnostního analyzátoru pro monitorování vybraných iontů
SPME	mikroextrakce tuhou fází
TCD	tepleně vodivostní detektor
TOF	průletový analyzátor
TSI	termosprej
WCOT	kolona s kapalnou stacionární fází